Thermo
SCIENTIFIC

NanoDrop 8000

V2.3 User’s Manual

取扱説明書 日本語版

技術的なサポートに関しては、販売代理店までお問い合せください。

2010 年 10 月 改訂

目次

1.　概要

本体特徴

Thermo Fisher Scientific NanoDrop™ 8000 分光光度計は一度に 8 つまでの 1 uL サンプルを高精度・高再現性で測定することのできる、フルスペクトル (220～750 nm) 分光光度計です。ソフトウェアでは、8 ポジションすべてを使用するモードと、手軽なシングルサンプルモードのいずれかを選択することができます。

NanoDrop 8000 には、NanoDrop シリーズに採用されている表面張力を利用した技術 (特許) を利用しています。サンプル保持システムの採用により、手間のかかるキュベットやその他のサンプル容器の必要性を排除しました。クリーニングも数秒で完了します。さらに、NanoDrop 8000 では高濃度サンプルも希釈せずに測定可能です (一般のキュベットを用いる方法より 50 倍濃度のものが測定可能です。)。

アプリケーション

NanoDrop 8000 分光光度計を使用すると、1 uL サンプルを簡単に UV/VIS 分光測定できます。必要なサンプルが微量で、取扱いが簡単なので、NanoDrop 8000 分光光度計は下記の測定に最適です。

- 3700 ng/uL (dsDNA) までの DNA サンプルを希釈せずに測定
- 蛍光色素でラベリングしたマイクロアレイサンプルの測定
- 100 mg/mL (BSA) までの精製タンパクの測定
- 蛍光標識されたタンパク質、化合物、および金属タンパク質の測定
- Bradford 法によるタンパク質の濃度測定
- BCA 法によるタンパク質の濃度測定
- Lowry 法によるタンパク質の濃度測定
- Pierce Protein 660 nm 分析
- 細胞などの濁度測定
- 一般的な UV/VIS 分光光度計として
- カスタムメソッド

操作

8 つまでの 1 uL サンプルを直接マルチチャンネルピペットで測定部表面に滴下します。

各測定部は光ファイバーケーブルの端末となっています。光ファイバー端末間に溶液を円柱状に牽引形成し、測定光路を確立します。光路長は 1 mm および 0.2 mm となるように自動的に調整されます。8 つのポジションの測定を順次実行し、検出結果を取得します。光源側の光ファイバーがリニア CCD アレイを利用した分光測定部に接続されています。本体は PC のソフトウェアで制御され、データは PC のアーカイブファイルに保存されます。

NanoDrop 8000 は以下の条件で室内での使用を目的に設計されています。

- 温度　　4.4 – 37.8℃
- 湿度　　10 – 90%

安全性

NanoDrop 8000 には 12V 電源が付属します。本体付属の電源のみをご使用ください。また、本体には、アース付電源コードも付属します。付属の電源コードを、適切にアースされた差込口に差してください。メーカーに指示された取扱方法を守らない場合、付属の電源コードおよび電源による保護を損なう恐れがあります。

NanoDrop 8000 を使用していない状態であっても、電源を差したままにしておけます。本体が不使用で、電源が接続されている場合、電力消費は約 5 W となり、フラッシュランプは作動していない状態となります。本体に電源スイッチは備えられていません。本体または壁の差込口への、電源の抜き差しが容易な場所に、本体を設置することをお奨めします。

WEEE 基準

本製品は欧州連合の Waste Electrical & Electronic Equipment (WEEE) 指令 2002/96/EC に従う必要があります。法令の遵守を求められた場合、下記のシンボルを本体に貼付する必要があります。

Thermo Fisher Scientific 社では、各 EU 加盟国で複数のリサイクル/廃棄業者と契約を結んでいます。本製品の廃棄は契約業者を通じて行ってください。WEEE 指令への遵守に関する詳細、各国でのリサイクルに関する詳細、および RoHS 指令の要旨に関連する製品情報については www.thermo.com/WEEERoHS をご覧ください。

特許

NanoDrop 8000 に利用されているサンプル保持システムは米国特許 6,628,382 および 6,809,826 でカバーされています。その他の特許に関しても申請中です。

2.　設定

コンピューターの必要条件

オペレーティングソフトウェアは、以下の条件を満たした IBM 互換 PC で動作します。マッキントッシュはご利用になれません。

- Microsoft Windows 2000、XP または Vista (32 bit) および Windows 7 (32 および 64 bit)
  NanoDrop ソフトウェアは Windows NT、95、98 もしくは ME では作動しません。
- 800 MHz 以上の周波数で作動するプロセッサ
- CD ROM ドライブ
- 128 MB 以上の RAM
- 100 MB 以上のハードディスク容量
- USB ポート (NanoDrop8000 は USB ポート専用です。)
- Microsoft Excel、もしくはデータを保存できる表計算ソフト (オプション)

特に記載のない場合、本文中のスクリーンショットは Windows XP にて作成したものです。

ソフトウェアのインストール

重要 – ソフトウェアをインストールする前に以下の事項に目を通してください！

注意 1: USB ケーブルを用いて NanoDrop 8000 を PC に接続する前に、システムソフトウェアを PC にインストールする必要があります。

注意 2: 本バージョンをインストールする前に、プログラムの追加と削除を使用して以前の NanoDrop 8000 ソフトウェアをアンインストールしてください。アンインストールを実行しても、現行の User Preference は保護されます。

注意 3: ソフトウェアのインストールには、Administrator による PC アクセスが必要となります。

注意 4: 本ソフトウェアのユーザーは、C:NANODROP DATA\ フォルダおよびサブフォルダへの書き込みおよび読み込み権限を所有する必要があります。

USB ケーブルを接続する際は、ソフトウェアを立ち上げる前に、USB デバイスおよびインターナルドライバがインストールおよび認識されるまで、約 30 秒間お待ちください。

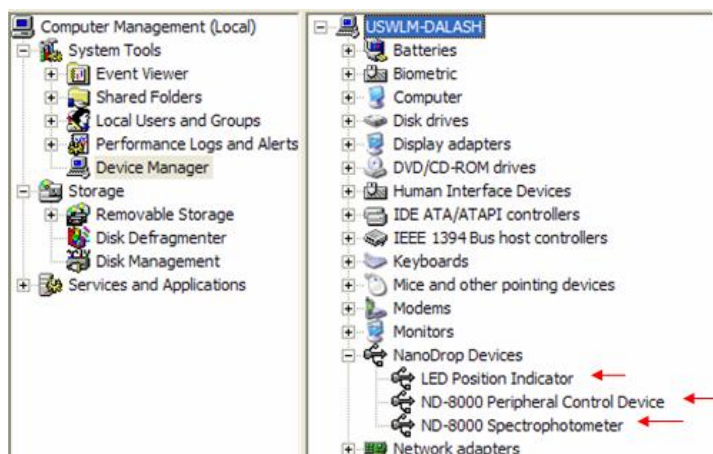
オペレーティングソフトウェアを適切にインストールするため、以下の説明に従ってください。

1. すべてのソフトウェアを終了し、USB ケーブルを抜いてください。

2. NanoDrop CD を PC のドライブに挿入すると、自動的にソフトウェア画面が立ち上がります。もし、立ち上がらない場合は、マイコンピュータの中から、CD のアイコンを選択して、**nd-8000…install.exe** のファイルをダブルクリックしてください。

3. ソフトウェアをインストールしたら、本体に電源を差し込み、5 秒待ってから USB ケーブルを接続してください。Found New Hardware Wizard ダイアログが起動します。Windows XP SP2 では適切なソフトウェアを参照するために、インターネット検索を行うか、質問されます。**No, not this time** を選択してください。他の OS については、プロンプトに従ってください。ソフトウェアのインストールが自動的に進行します。

4. Found New Hardware Wizard を通じてのインストールには 2 つのサイクルが必要となります。1 つは NanoDrop 8000 分光光度計のためのもので、もう 1 つは 内蔵の 2 つのデバイスのためのものとなります。NanoDrop 8000 を良好に操作するためには、全部で 3 つの USB デバイスのインストールが必要となりますが、確認できるのは、Hardware Wizard による 2 サイクルのみとなります。インストールの確認には、以

下の Windows Device Manager をご覧ください。

以上でインストールは終了です。ソフトが適切に起動しない場合は、トラブルシューティングを参照してください。

フォントの設定

ソフトウェアを最適な環境でお使いになるために、MS Sans Serif font の 8 ポイントにしてください。

1. デスクトップで右クリックし、**プロパティ**を選択します。

2. **デザイン** タブを選び、**詳細設定** をクリックします。

3. **指定する部分** を **アイコン** に変更し、上記のフォントを選択します。

4. **OK** をクリックします。

他のフォントでも使用できますが、オペレーティングソフトウェアの画面内に文字が収まらない場合がございます。

ソフトウェアアップグレード

基本的に最新のソフトウェアは無料で提供されます。www.scrum-net.co.jp もしくは www.nanodrop.com よりダウンロードすることができます。

USB フラッシュドライブポート

一般的な USB フラッシュドライブはデータのエクスポートに使用されます。注意: User Preference モードを使用し、Automatic Export Report のデフォルトで送信箇所を設定する際、フラッシュドライブがいつでも同じ ‘取り外し可能なデバイス’ に割り当てられるとは限りません。

ケーブルの接続

本体と PC は USB ケーブルで接続できます。また、電源は本体の背面に付属の電源アダプター (12 V) を接続します。

注意: NanoDrop 8000 分光光度計には、12 V 電源アダプターが付属します。本体付属の電源アダプターのみをご使用ください。また、本体には電源コードも付属します。電源コードは適切にアースされたコンセントに差し込んでください。本書で規定された以外の方法での本体の使用は、付属の電源コードおよび電源アダプターによる保護を損なう場合があります。

本体の不使用時であっても、電源を差し込んだままにしておけます。本体が “スタンバイ” モードの時、電気の消費量は約 5 W で、フラッシュランプは休止しています。また、本体に電源スイッチはなく、12 V 電源の稼動に関する視覚的な表示もありません。

注意: 電源の抜き差しが容易な場所に本体を設置することをお奨めします。

登録

ユーザー登録にご協力ください。今後、NanoDrop 社は継続的にソフトウェアのバージョンアップを行っていく予定です。メール等にて情報をお送り致しますので、納品時、製品についております保証書にご記入の上、必ず国内輸入販売店の株式会社スクラムへ返送くださるようお願いします。

ロックアタッチメントポート

LapTop PC の盗難防止に使用する標準的なセキュリティワイヤーを取り付けることのできるセキュリティスロットを、NanoDrop 8000 は備えています。

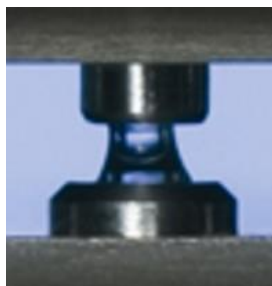
3.　操作全般

1. ピペットガイドを使用しやすい角度で、本体を設置します。上部アームを上げて、図のようにガイドを利用してピペッターの位置を決めます。サンプルが下部測定面に乗っていることを確認しながら、ピペットで測定面に分注します。測定面に触れた際に、チップが斜めになっていたり、曲がっていたりする場合は、よりしっかりした構造の別ブランドまたは別スタイルのチップを使用してください。

右手で測定台にピペッティングする際の最適な本体設置角度

8 Sample モードでのサンプルのピペッティング

Single Sample モードでの測定台 A へのサンプルのピペッティング

2. ヘッドを押したまま、慎重にピペットを抜きます。それぞれのサンプルが適切な測定面に乗っていることを視覚的に確認してください。一部のサンプルを適切に分注できなかった場合は、サンプル間で分注/測定タイミングのずれが生じないよう、ラボペーパーで全てのサンプルを拭き取り、新しいサンプルを再度ピペッティングしてください。

3. 上部アームを閉じ、PC のソフトウェアを使って、スペクトルの測定を開始します。上下の測定面間にサンプルの液柱が形成され、スペクトルの測定が実行されます。

4. 測定が終わったら、上部アームを開けて、柔らかなラボペーパー (キムワイプ等) を使って、上下の測定面のサンプルを拭き取ります。

サンプル保持システムの使用後のクリーニング法

通常、各サンプル測定後の上下測定面の拭き取りにより、サンプルキャリーオーバーと残留物の定着を回避することができます。しかし、測定面へのサンプルの残余を回避するためにも、高濃度サンプル測定後は 2 uL の水で上下測定面をクリーニングする必要があります (通常の測定では不要)。

多量のサンプルを測定した後は、脱イオン水を含ませたラボペーパーで上下測定面と周囲を十分にクリーニングすることをお勧めします。最後の測定が完了したら、脱イオン水を含ませたラボペーパーで拭いた後、乾いたラボペーパーで良く拭いて下さい。注意: 脱イオン水を使用する際は、噴霧ボトルは使用しないでください。

測定面の汚染除去

汚染除去の必要な場合は、次亜塩素酸ナトリウムの 0.5% 溶液 (一般の市販漂白剤の 10 倍希釈 - 使用ごとに作製) 等の消毒液を使用し、上下測定面の生理活性物質を除去してください。測定面のオプティカル部分の金属は、SUS303 ステンレス鋼を使用し、一般的なラボの薬品に対して耐性があります (付録「溶媒耐腐食性」を参照)。
最後に脱イオン水を使って、表面をすべてクリーニングすることも推奨されます。注意: 漂白剤もしくは脱イオン水をご使用の際は、噴霧ボトルを使用しないでください。

サンプル保持システムの迅速なリコンディション
Bradford 試薬等の表面活性剤を含むバッファーはサンプル台表面の状態を悪化させ、1 uL サンプルでの液柱形成を困難にする場合があります。表面の状態が悪化した場合や、測定時に液柱が形成されにくい場合は、測定面のリコンディションの迅速な手段として、NanoDrop リコンディショニングキット (PR-1) をご使用ください。

サンプルの推奨量
上下の測定面の間にサンプルの液柱が形成されることが必要であり、サンプル量そのものが結果に影響することはありません。注意: 8 つのポジションのすべてを使用して、測定を行う必要はありません。

サンプルの液柱形成を確実にするために、下記の量で測定することを推奨します。
- 核酸: 1 uL
- 精製タンパク質: 2 uL
- Bradford 法、BCA 法、Lowry 法、または Pierce Protein 660 nm Assay 溶液: 2 uL
- Microbial cell suspensions: 1-2 uL

1～2 マイクロリットルの分注を確実に行うためには、極細チップの付いた高精度ピペッター (0～2 マイクロリットル用) の利用が最適です。サンプルの特性、またはピペッターの精度が不明な場合のサンプル量は 2 uL が推奨されます。

複数のサンプルをサンプル台に滴下する際は、ピペッティングの遅れによる蒸発を最小限に抑えるためにも、適切なチップを装着した 8 チャンネルピペッターを使用してください。測定面に触れた際に、チップが斜めになっていたり、曲がっていたりする場合は、よりしっかりした構造の別ブランドまたは別スタイルのチップを使用してください。分光光度計にサンプルをピペッティングした後は、速やかに測定を開始してください。測定の遅れは、精度に影響を与える場合があります。

サンプルのキャリーオーバー
NanoDrop 8000 の測定面へのサンプル残余は、容易に回避することができます。上下測定面を乾いたラボペーパーで拭き取るだけで、十分な効果が得られます。

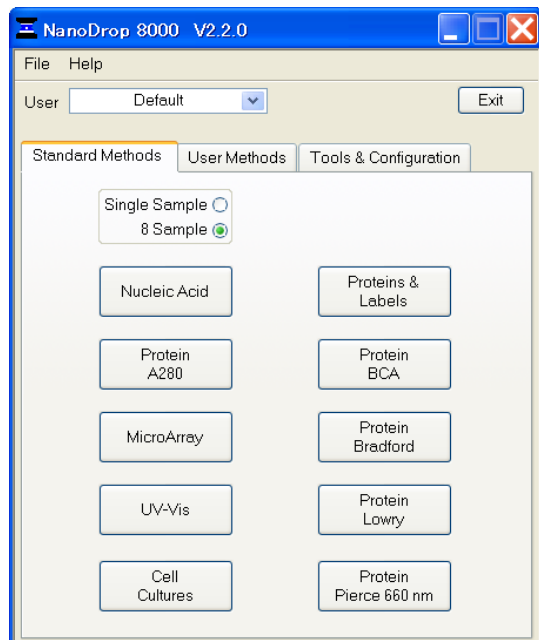
サンプルの均一性
均一性のない溶液からのサンプル採取は、特に使用するサンプル量が少ない時には、分光光度法をはじめとするあらゆる測定技術を利用して生成したデータに著しいばらつきを引き起こす可能性があります。ゲノム DNA やラムダ DNA、不均一な高濃度核酸の溶液が一般的な例として知られています。タンパク質は変性、沈殿、および凝集が起こりやすいので、サンプルの均一性を確保するためにも、取扱いに注意が必要です。

蒸発による影響
測定中のサンプルの蒸発が、測定結果に与える影響はサンプル濃度で 1～2% 増と考えられます。同現象は、同じサンプルを連続して測定することで実際に観察することができます。ヘキサン等の高揮発性溶媒では、測定の完了前に蒸発する可能性があります。DMSO 等の低揮発性溶媒では蒸発の影響は低くなります

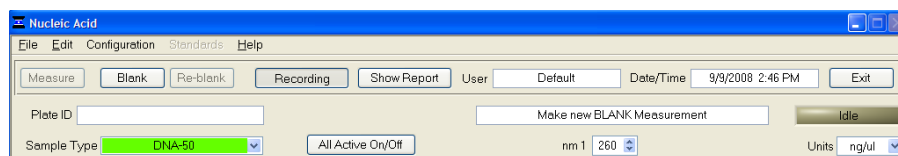
蒸発の影響を最低限に抑えるために、8 チャンネル、低容量ピペッターを使用して、測定台へのサンプルのピペッティングを同時に行うことをお勧めします。

サンプルの回収
サンプル保持システムの利点のひとつに、測定後、サンプルをそのままピペットで回収できることが挙げられます。

Single Sample モードと 8 Sample モード

NanoDrop 8000 では Single Sample モードもしくは 8 Sample モードのいずれかを使用することができます。ソフトウェア開始時にデフォルトで選択されるモードは 8 Sample モードです

Single Sample モードおよび 8 Sample モードに共通の機能

測定モードの起動
ソフトウェアが起動すると、本体モーターの初期化を告げるメッセージが表示されます。次にスペクトロメーターを初期化するために水滴の分注を促すメッセージが表示されます。

最良の結果を出すために、**上下測定部表面に汚れ等が付着していないことを確認し**、下部測定部の**それぞれに** 2 uL の dH2O を乗せて、アームを下げて、OK をクリックします。'Please wait – Initioalizing Spectrometer (分光光度計の初期化中です。しばらくお待ちください。)' のメッセージが表示されます。メッセージが消えたら、測定可能です。測定データは、すべて適切なアーカイブファイルに保存されます。注意: Single Sample モードでは測定台 A のみに水をピペッティングします。

Blank (F2)
サンプルの測定を行う前に、Blank の測定および保存を行う必要があります。8 つのポジションは、すべて Blank コマンドによって Blank を測定します。

注意: 8 Sample モードを使用する場合、ソフトウェアは各 Blank と最初に測定されるポジションの測定サイクルを開始します。このため、測定するポジションの数は予想より 1 つ少なくなります。初期の Blank 測定が終了したら、各グラフに直線が表示されます。後に、Blank を測定すると、サンプルのスペクトルは消去され、再び直線が表示されます。

Blank の測定方法

最適な結果を得るために、一連の測定を実行する前に Blank を測定してください。

1. 測定モードを開きます。

2. ブランクサンプル (測定に使用するバッファー、溶媒等) を下部測定面のそれぞれに乗せ、上部アームを閉じてください。

3. Blank ボタンをクリックしてください。測定が終了したら、測定面からブランクサンプルを拭き取ります。

4. All Active On を選択し、新しいブランクサンプルをすべての測定面に乗せて、Measure ボタン (F1) を使用して、測定します。8 つのスペクトルは 0 に近い、比較的平坦なベースラインとなるはずです。

5. ラボペーパーを用いて、上下測定面からサンプルを拭き取り、1 mm 光路相当でベースラインから 0.005 A 以内のスペクトルとなるまで測定を繰り返します。注意: Nucleic Acid、A280、および Proteins & Labels モードでは吸光度は 10 mm 光路長にノーマライズされて表示されます。よって、有効な誤差はベースラインから +/- 0.05 abs となります。

6. 必要に応じて、サンプルの測定を開始する前に Configuration ドロップダウンボックスで Sample ID リストをリロードします。

吸光度の算定についての詳細は、付録 “Blank 測定および吸光度の算定” を参照してください。

Measure (F1)

Measure ボタンをアクティブにするには、まず Blank の操作をします。次に Measure ボタンをクリック、もしくは F1 キーを押すことによって、測定を実行します。測定サイクルは全体でおよそ 20 秒 (サンプル数が 8 つ未満の場合、時間は短縮されます。) です。

Measure ボタンはあらゆるサンプル (Blank でないもの) の測定を開始します。F1 キーの入力、もしくは Measure のクリックによって、Measure 機能を作動させます。Sample Position Illuminator により、96 ウェルプレートのどの列を次にサンプリングするかが視覚的に分かります。Sample Position Illuminator は画面に表示された Sample Status Color Code に対応しています。Sample Position Illuminator の詳細については “Sample ID ファイル” の項目をご覧ください。

Re-blank (F3)

Reblank では、サンプルの吸光度算定に使用する新しい Blank が設定されます。Re-blank 機能は選択した特定サンプルに適用され、対象のサンプルそれぞれの濃度を再計算します。グラフ上に新しいスペクトルが表示され、以前のサンプルデータが再計算され、保存されても、レポートに再計算されたデータは表示されません。

吸光度の算定についての詳細は、付録 “Blank 測定および吸光度の算定” を参照してください。

Start Report / Recording

全てのデータは自動的に保存されます。Start Report/Recording 機能でデータを蓄積するに従い、測定結果を Active Report Table に記録することができます。デフォルトの設定では、すべての測定モードに対して Recording 機能がオンとなっています。’Start Report’ が表示されている場合は、蓄積データは記録されますが、Active Report で表示することはできません。

Show Report

本ボタンを選択すると、Data Viewer の Report ページが表示されます。詳細については “保存データと DataViewer” セクションをご覧ください。

User
使用しているユーザーアカウントが表示されます。

User Guidance Display Box
状況に応じて、操作手順もしくは現在の本体の状態が表示されます。

Units
結果表示ページの右側のドロップダウンボックスで、算出した濃度の表示および保存に使用する単位を決定することができます。注意: 測定時に選択した単位でデータが保存されます。ドロップダウンリストから異なる単位を選択すると、表示上の濃度は変更されますが、保存される値に変更はありません。

ドロップダウンボックスから Edit List を選択すると、下記のポップアップボックスが表示されます。

Units List Editor

Current Units List

New Units >>

Weight Based

Molarity Based

Scaling from g/L 0.00E+0

Delete Selected

Update Selected

- g/l
- M
- %
- mM
- ug/ml
- uM
- ug/l
- nM
- mg/l
- mg/ml
- ng/nl
- ng/ul

Units with a diamond symbol are protected & cannot be deleted. Select and drag any unit to re-order the units list.

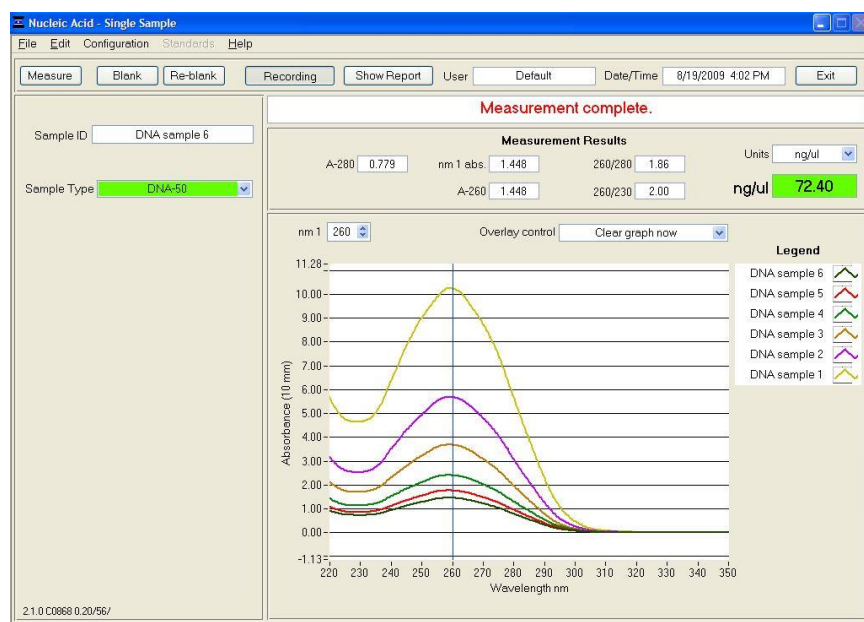
NOTE: the Mol. Wt. must be known for the sample type being measured to convert between weight and Molarity-based units.

OK Cancel

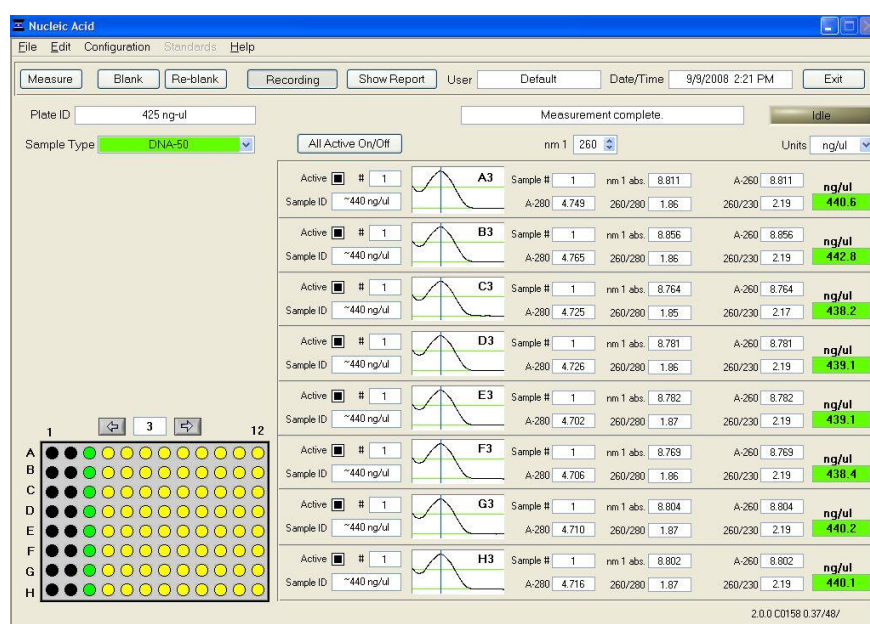
新規の単位名を入力し、Weight Based もしくは Molarity (M) Based のいずれかを選択します。分子量の入力が可能な測定モードであれば、単位の選択は重量およびモル濃度ベース両方での濃度測定に対応します。重量-モル濃度の換算には分子量が必要となります。

Sample ID
印刷データおよびアーカイブファイル中のサンプルを識別する目的で、Sample ID を入力することができます。Sample ID を測定後に入力することはできません。Sample ID の入力の詳細な情報については、”Sample ID List フォーマット” セクションをご覧ください。

Exit
すべての測定モードとサポートオプションを終了します。Exit ボタンを押した後、10 秒以内であればキャンセルすることも可能です。10 秒以内に何らかのアクションを起こさない場合合、コマンドが実行されます。注意: あらゆる測定データは自動的にアーカイブファイルに保存され、何らかの特別なアクションは必要ありません。

Single Sample モードに固有の機能

Load Next Sample ID (F7)
Sample ID リスト (.txt ファイル) をインポートした場合、次に測定する Sample ID を自動表示します。

Legend
画面右には、直近に測定したサンプルの Sample ID がリスト表示されます。**Accumulate until clear** を選択している場合、リストの一番上に最新の測定サンプルが表示されます。注意: リストには最大で 12 個の Sample ID が表示されます。スペクトルを消去することなく、12 サンプル以上測定した場合、最も古い Sample ID が Legend から削除されていきます。

8 Sample モードに固有の機能

Sample Plate Map

Sample ID ファイルをインポートすると、Sample Plate Map 表示も自動的にコピーされます。また、Sample ID や他のパラメーターのマニュアル入力を行うこともできます。Sample Position Illuminator は標準的な 96 ウェルプレートを視覚化し、測定に関する情報を示します。ライトガイドは、ソフトウェア画面に表示される Sample Status Color Code に一致し、点灯パターンはセットアップ時のプレート設定によって変化します。

Status

測定中、Status ボタンは緑色になります。

Indicates number of replicates specified in plate set-up.

Indicates actual number of replicate measurements made.

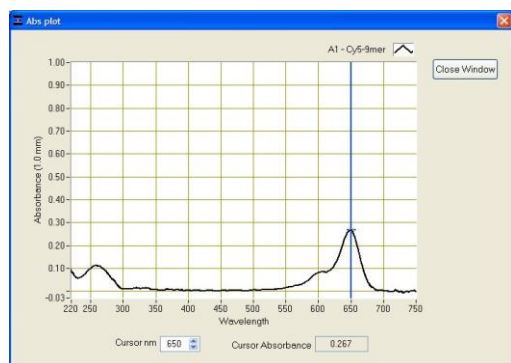
Units.

 # および Sample #

スペクトルの左側の # 表示は、Sample ID の入力もしくはプレートファイルの読み込み時に入力された replicate の数を示しています。スペクトルの右側の Sample # はサンプルの測定が記録される際にアクティブとなり、測定した replicate の数を示しています。

サンプルスペクトルの拡大ビュー

ユーザーは対象のスペクトルをクリックすることで、単独スペクトルの拡大ビューを表示することができます。ビューには移動式のカーソルと、スクリーン下部ボックス内での対応 nm と吸光度の表示が含まれます。注意: 測定が実行されると、データが保存されます。データ保存後にカーソル位置を移動しても、データファイルは変更されません。拡大ビューでカーソルを移動させても、結果表示画面での波長位置に変化はありません。

Standard Curves

BCA、Lawry、Bradford、および Pierce 660 nm アッセイでの測定を行う際、検量線が必要となります。NanoDrop 8000 ソフトウェアでは検量線の保存および読み込みが可能ですが、キットメーカーのガイドラインに従い、測定の都度、検量線を作成してください。シングルもしくはマルチポイントでの検量線の作成はソフトウェアに組み込まれています。検量線は Reference (タンパク質を含まない試薬) と Standard を使用して作成されます。マルチポイントの検量線では 7 つの異なる Standard につき 5 回まで測定できます。
モードの初期化が終了すると、以下のボックスが表示されます。

Choose Standards Source

Standards are required. Choose the Standard Curve source.

Load Standard Curve | New Standards Measurements | Cancel

事前に保存しておいた検量線の読み込み、もしくは新規検量線の作成を実行することができます。New Standards Measurements ボタンを選択すると、以下のダイアログボックスが表示されます。

Do you want to load the concentrations and curve type for generating a standard curve from a previously saved standard curve file?

Yes | No

Measurements Table　Double Click on any row to change the concentration or delete replicates.

	Standard	mg/ml	Ave Abs.	Abs. 1	Abs. 2	Abs. 3	Abs. 4	Abs. 5
Active	A - Reference	0.000						
Active	B - Standard 1	1.000						
Active	C - Standard 2	2.000						
Active	D - Standard 3	3.000						
Active	E - Standard 4	4.500						
Active	F - Standard 5	6.000						
Inactive	G - Standard 6							
Inactive	H - Standard 7							

Yes ボタンをクリックすると、実際の測定値を除いた Standard 系列がインポートされます (上図右参照)。本オプションはルーチンでの検量線の使用に大変便利です。

Standards メニュードロップダウンで、保存している検量線の読み込み、新規検量線の作成、もしくは現行の検量線の表示を実行することができます。詳細については、各タンパク質測定のセクションをご覧ください。

その他の機能

User's Manual
すべての測定モードの Help メニューおよびメインメニューから、PDF 形式の取扱説明書にアクセスすることができます。または、Start > Programs > NanoDrop > ND-8000 (バージョン) からも取扱説明書を開くことができます。

Print Window
File プルダウンメニューから、もしくは **Ctrl+P** を入力することによって、Print ダイアログを開始することができます。

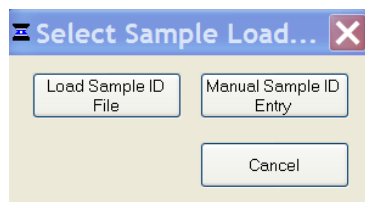
.JPG イメージでの画面の保存
File プルダウンメニューから **Save Window** を選択すると、現在の画面を .jpg イメージで保存することができます。

Escape キー (ESC)
Escape キーですべてのスクリーンを終了します。**Escape** キーを 2 度押しすると、測定モードからユーザーログアウトします。

4. Sample ID の入力

Sample ID の入力 – Single Sample モード

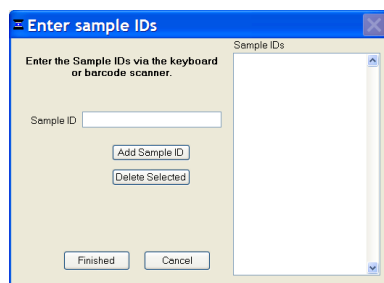
Sample Loading Mode の選択

本体の初期化プロセスが完了すると、以下のウィンドウが自動的に表示され、Plate Setup の選択肢を示します。

Sample ID File のロード

NanoDrop 8000 ソフトウェアでは、Single Sample モードおよび 8 Sample モードのいずれでも、入力済みの Sample ID およびサンプル名のリストをロードすることができます。

リストは Excel もしくはメモ帳で入力し、.txt ファイルで保存します。作成したファイルは C:\ND-8000 Data の Plate Files フォルダに保存することをお奨めします。ファイルの作成時、すべてのサンプル名は 1 つのファイルに入力します。ヘッダーは入力しないでください。バーコードリーダーを使用すると、バーコード化された各サンプル名が、.txt ファイルにスキャンされます。以上の形式であれば、1 つのファイルに入力およびロードできる Sample ID 数に上限はありません。

Manual Entry

本オプションから Enter Sample IDs ウィンドウを開き、Sample ID および測定する各サンプルの replicate 数をマニュアル入力することができます。

また、測定前に、測定結果画面の Sample ID ボックスに直接入力することができます。

Sample ID の入力には、バーコードリーダーを使用することもできます。入力後、 Add sample ID ボタンを押すか、Enter キーを押すことでボックス右側の Sample ID リストにサンプルを追加することができます。リストの下矢印を使用すると、リストをスクロールして、入力した Sample ID を確認することができます。

Single Sample モードの Configuration オプション

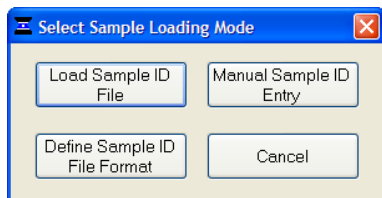
リストのロードやマニュアルでの Sample ID の入力をせずに、Palte Setup Mode を終了した場合、結果表示画面 の Configuration ドロップダウンリストから上記の操作にアクセスすることもできます。Configuration ドロップダウンリストには以下の 2 つのオプションが含まれます。

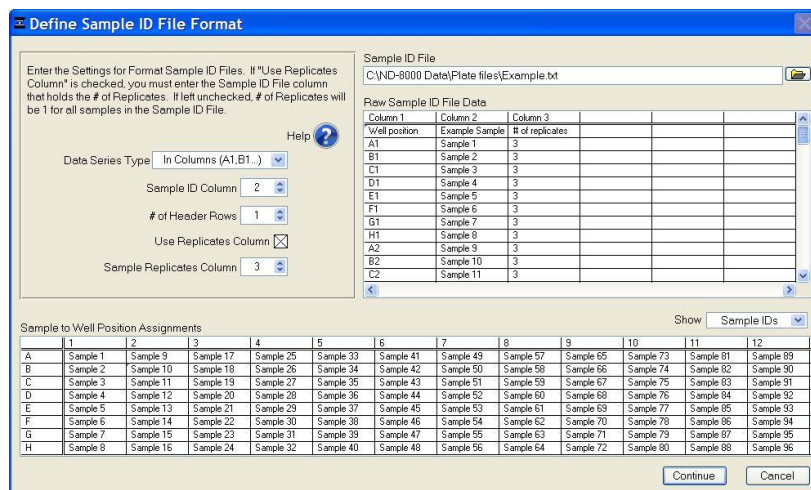
- Sample ID Required – 本オプションを選択した場合、各測定の前に Sample ID フィールドへの入力が必要となります。

- Prompt Close Data Viewer – 本オプションを選択した場合、ソフトウェアを終了する際、Data Viewer も終了するかどうか選択できます。

Sample ID の入力 – 8 Sample モード

Sample Loading Mode の選択

本体の初期化プロセスが完了すると、以下のウィンドウが自動的に表示され、Plate Setup の選択肢を示します。

Sample ID File のロード

NanoDrop 8000 では Sample ID の入力方法にいくつかのオプションがあります。測定数が少数の場合は、測定前にサンプル名をそのまま入力するか、Manual Sample ID Entry を使用するのが簡単です。また、NanoDrop 8000 ソフトウェアでは入力済みの Sample ID およびサンプル名のリストをロードすることもできます。本機能により、多数のサンプルを測定する際の効率を改善し、エラーを減らします。Load Sample ID File オプションでは、Plate Files フォルダを開き、入力済みの Sample ID のリストを選択します。

リストは Excel もしくはメモ帳で入力し、.txt ファイルで保存します。作成したファイルは C:\ND-8000 Data の Plate Files フォルダに保存することをお奨めします。ファイルの作成時、すべてのサンプル名は同じ行に、各サンプルに必要な replicate の数は別の行に入力します。バーコードリーダーを使用すると、バーコード化された各サンプル名が、.txt ファイルにスキャンされます。以上の形式であれば、1 つのファイルに入力およびロードできる Sample ID 数に上限はありません。

注意: 上記の方法の代わりに、サンプル名を 8 x 12 の配列で .txt ファイルに保存することもできます。8x12 形式で一度にロードできる Sample ID はプレート 1 枚分に限られます。8x12 形式であれば、各ウェルがすでに画面上の Plate Map と対応しているので、Define Sample ID File Format ボタンを使用する必要がありません。8 x 12 形式の Sample ID をロードする場合は、Load Sample ID ボタンを使用してください。

Define Sample ID File Format

上述の 8 x 12 形式を除いて、.txt ファイルをロードする前に、Define Sample ID File Format 機能を適切に使用して、結果表示ページの Plate Map のウェルポジションと、.txt ファイルの Sample ID の並び方が正確に一致するように指定する必要があります。まず、ブラウザダイアログボックスを使用して、Plate Files フォルダから目的のファイルを選択します。

Data Series Type ドロップダウンリストを使用して、適切なデータの並び方 (rows or columns: 列もしくは行) を選びます。**Rows** (列順: 始めの 12 サンプルが A1 – A12 に該当し、次の 12 サンプルは B1 – B12 に該当、以下列 C、列 D…と続く形式)、または **Columns** (行順: 始めの 8 サンプルが A1 – H2 に該当し、次の 8 サンプルが A2 – H2 に該当、以下行 3、行 4…と続く形式) のいずれかでのウェルポジションにサンプル名は一致します。96 サンプルの各セットは、”plate” とみなされます。部分的な “plate” の利用も可能です。

Sample ID の並び方を設定した後、Continue を選択すると、Sample ID リストをロードします。リスト中に含まれる Sample ID の数が 96 を超える場合、以下のポップアップウィンドウが表示されます。

Plate Set セレクターでは、指定した並び順で Sample Map に各サンプルが入力されている状態を確認することができます。不一致のあった場合は、右下の Define Sample ID File Format ボタンをクリックして、一段階前に戻ってください。

Manual Entry

本オプションから Enter Sample IDs ウィンドウを開き、Sample ID および測定する各サンプルの replicate 数をマニュアル入力することができます。

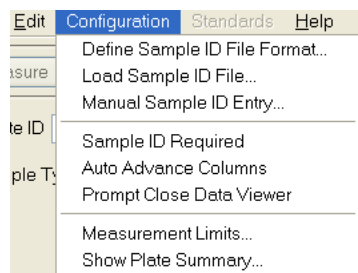
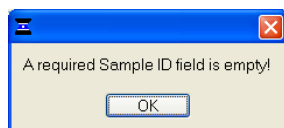
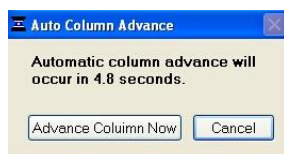
同じ列の次のウェルに移動する場合は、サンプル名を入力して、**Next Well** ボタンをクリックします。別の列のウェルを選択するには、対象のウェルをハイライトし、サンプル名を入力し、Enter キーを押します。

Cancel

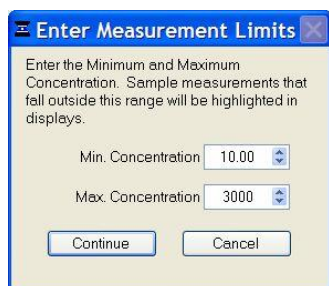
一切の変更を加えずに、ウィンドウを閉じます。

注意: Sample ID File Format を設定している場合 (下図参照)、ユーザーが他のフォーマットを選択するまで、フォーマットが維持され、以降のプレートに適用されます。そのため、以前に入力した Sample ID リストをロードする際は、画面の Plate Map 上でサンプル名が Row 順で配置されるのか、Column 順で配置されるのか、把握する必要があります。

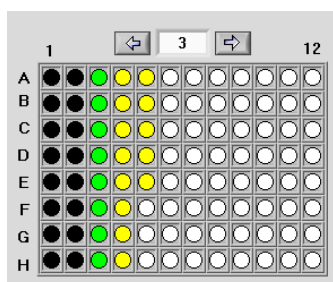
8 Sample モードの Configuration オプション

リストをロードすることなく、Palte Setup Mode を終了した場合、結果表示画面 の Configuration ドロップダウンリストから上記の操作にアクセスすることもできます。Configuration ドロップダウンリストには以下のオプションが含まれます。

- **Sample ID Required** – 本オプションを選択した場合、測定する各サンプルについて Sample ID フィールドへの入力が必要となります。Sample ID の必要なウェルは Sample Status Color Code (本機能については後述参照) で赤くマークされ、サンプル測定を行う際に、以下のメッセージが表示されます。

- **Auto Advance Columns** – 本オプションを選択すると、表示されたスペクトルの消去、および Sample Status Color Code と Sample Position Illuminator (本機能については後述参照) の次の列への移動前に 5 秒間の待機時間が設定されます。本オプションにより、対象の列への自動進行をキャンセルすることができます。次の列の測定時に自動進行に復帰します。本機能は User Preference から、デフォルト機能として設定することができます。

  注意: 全てのデータは自動的に保存され、Data Viewer からアクセスすることができます。

- **Prompt Close Data Viewer** – 本オプションを選択した場合、ソフトウェアを終了する際、Data Viewer も終了するかどうか選択できます。

- **Measurement Limit** – 測定するサンプルの濃度上限および下限を設定することができます。Measurement Limit の設定の詳細に関しては各測定モードについての項目に記述されています。

- **Show Plate Summary** – 測定セッション中いつでも、プレートの測定結果をレビューすることができます。プレート全体を測定した後であれば、対象のサンプルを繰り返し測定するためのマーキングを施すこともできます。

Sample Status Color Code

96 ウェルプレートの図式で、測定しているサンプルの位置を確認することができます。黒色のウェルは対応するウェルのサンプルが測定済みであることを示しています。緑色のウェルは現在測定中の位置を、黄色のウェルは測定予定の位置を示しています。事前に読み込んだ Sample ID リストもしくはマニュアルで入力したサンプル名が対応するウェルに、入力されます。追加のウェルを選択する場合は、Configuration ドロップダウンボックスを使用し、Manual Plate Set-up を選択してください。Configuration ドロップダウンリストから Sample ID Required を選択している場合、ID のないウェルは全て赤色でマークされ、Sample ID を入力するまで、測定ができません。

Sample Position Illuminator

本ライトガイドによって、96 ウェルプレートのどの列を次にサンプリングするかが視覚的に分かります。Sample Position Illuminator は画面に表示された Sample Status Color Code に対応しており、点灯のパターンは Plate Configuration によって決定されます。測定濃度の範囲を設定している場合、設定範囲外のウェルは測定後すぐに Sample Position Illuminator 上で点滅します。現行のプレートサンプルセットの測定が終了し、測定結果がレビューされ、Plate Result Summary ウィンドウが閉じられるまで、点滅し続けます。

Plate Review

Auto Advance Columns 機能を有効にしていると、プレートサンプルセットの測定が終了した時点で、Plate Result Summary ウィンドウが自動的に表示されます。Configuration ドロップダウンリストから Show Sample Summary を選択した場合もまた、本ウィンドウが表示されます。本ウィンドウから、繰り返し測定するサンプルウ

ェルをマークすることができます。測定範囲を設定した場合、Sample Position Illuminator の点滅ライトと Plate Summary 上の対象サンプルを赤く表示することによって、測定したサンプルが設定範囲外であることが示されます。Plate Summary をレビューし、繰り返し測定するサンプルにマークし、ウィンドウを閉じると、Sample Position Illuminator は点滅を停止します。

Plate Results Summary

File

Plate ID 425 ng-ul

Plate Results (ng/ul)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	458.2	-0.1	459.6	460.7	460.3	460.0	460.3	458.9	458.0	459.5	458.6	458.8
B	458.5	460.9	460.9	461.2	459.6	460.6	465.9	461.0	459.8	461.2	461.1	461.6
C	456.9	458.8	456.5	457.7	456.9	457.8	458.9	458.3	458.2	458.4	461.6	457.7
D	459.0	459.2	458.7	458.6	459.0	460.1	460.2	459.5	461.1	461.3	459.8	460.0
E	457.0	459.5	457.1	458.5	458.3	458.6	464.2	459.3	460.5	463.2	459.7	459.6
F	457.5	458.5	456.5	-0.0	456.8	456.0	459.3	457.5	458.3	458.6	459.5	459.6
G	461.4	462.2	460.3	461.6	459.8	458.6	464.8	461.6	462.3	461.3	461.7	460.8
H	458.6	459.9	456.9	458.6	457.4	459.0	460.8	458.7	458.5	460.5	460.6	460.2

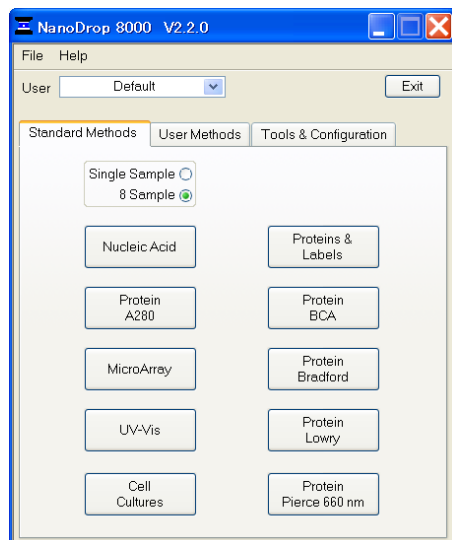
Cell Color Code:
White: inside limits
Red: outside limits
Light green: inside limits & selected
Dark green: outside limits & selected

Click on any cell to select/de-select that cell for repeat measurements.

Repeat Selected　Close Window

5. Standard Methods

ソフトウェアの構成と機能

メインメニュー
上部アームを下ろした状態で、下記のパスを選択して、オペレーティングソフトウェアを起動します。
Start → Programs → NanoDrop → ND-8000 (version)
Standard Methods、User Methods、および Tools & Configuratiion の 3 つのタブが表示されます。

アプリケーション (測定モード)
オペレーティングソフトウェアは、研究者のニーズに合わせて設計されています。以下のアプリケーション (測定モード) が含まれています。

- Nucleic Acid – 核酸の濃度と純度
- Protein A280 – 精製タンパク質の濃度
- MicroArray – dye 結合時の核酸の濃度と純度
- UV-Vis – 一般的な UV-Vis の測定
- Cell Cultures – 濁度の吸光
- Proteins & Labels – dye 標識されたタンパク質や化合物、金属タンパク質の濃度
- Protein BCA – BCA 法によるタンパク質濃度測定
- Protein Bradford – Bradford 法によるタンパク質濃度測定
- Protein Lowry – 改良 Lowry 法によるタンパク質濃度測定
- Protein Pierce 660 nm – 660 nm アッセイでのタンパク質濃度測定

注意: 比色定量法アプリケーションは Single Sample モードでは使用できません。メニューボタンでも使用不可 (灰色に塗り潰された状態) となっています。

核酸の測定モード

核酸のサンプルは、NanoDrop 8000 分光光度計を使って、濃度や純度が容易に確認できます。核酸サンプルの測定は、メインメニューより 'Nucleic Acid' ボタンを選択します。

サンプルの必要量

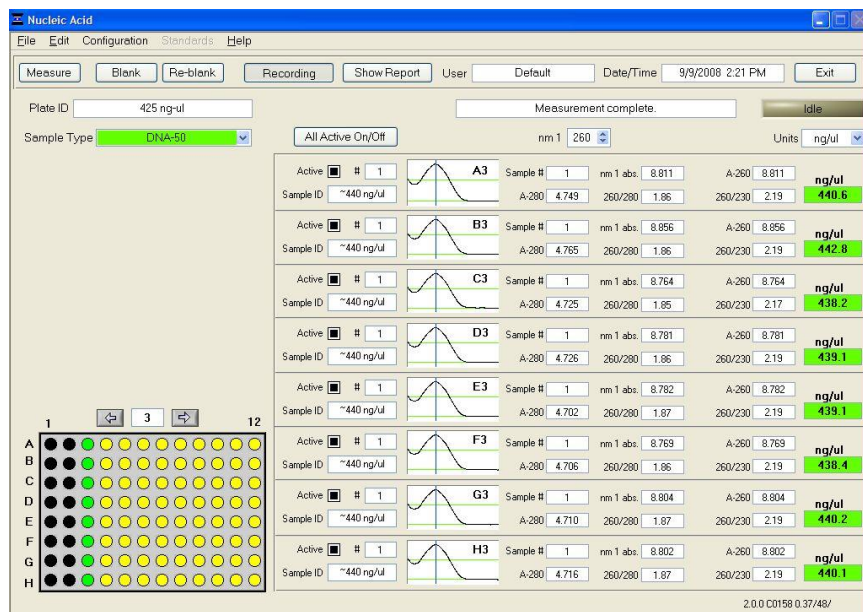
核酸サンプルを測定する際、確実にサンプル液柱を形成するには、1 uL のサンプルで十分であることが分かっています。ただし、ピペッターの精度やサンプルの特性によって、1.5～2 uL のサンプルが必要となる場合もあります。

複数のサンプルをサンプル台に滴下する際は、ピペッティングの遅れによる蒸発を最小限に抑えるためにも、8 チャンネルピペッターを使用してください。分光光度計にサンプルをピペッティングした後は、速やかに測定を開始してください。測定の遅れは、精度に影響を与える場合があります。

測定濃度範囲

NanoDrop 8000 分光光度計では、核酸サンプルを最大 3700 ng/uL まで希釈しないで正確に測定します。本体が自動的に高濃度を検知して、1 mm から 0.2 mm の光路長に変えて吸光度を測定します。以下の表は NanoDrop 8000 での核酸測定における濃度と典型的な再現性のリストとなっています。

およその検出限界 (下限値) (ng/uL)	**およその検出限界 (上限値) (ng/uL)**	**測定の繰り返し精度 (最少 96 replicates) (SD= ng/uL; CV= %)**
2.5	3700 (dsDNA) 3000 (RNA) 2400 (ssDNA)	サンプル範囲 2.5-100 ng/uL: ± 2.5 ng/uL サンプル範囲 >100 ng/uL: ± 2.5%

Configuration ドロップダウンリストより Measurement Limit を選択することで、260 nm の吸光度から算定される核酸測定の濃度の上限値と下限値を設定することができます。Measurement Limit はデフォルトとして設定できないので、測定モードを開くたびに設定する必要があります。設定した範囲から外れた測定は、Sample Position Illuminator 上の点滅ライトで示されます。Plate Summary の表示上でも、同様のサンプル濃度は赤くマークされます。Plate Summary をレビューし、反復測定するサンプルにマークし、ウィンドウを閉じると、Sample Position Illuminator は点滅を停止します。

結果表示画面

- **Sample Type:** 測定する核酸の種類によって色分けされています。ユーザーは、dsDNA 用の 'DNA-50'、RNA 用の 'RNA-40'、一本鎖 DNA 用の 'ssDNA-33'、あるいは他の核酸用の'Oligo Calc" および 'Other' を選択することができます。デフォルトの設定は DNA-50 となっております。

  'Other' を選択する場合、ユーザーは 15-150 間の吸光係数を選択します。核酸モードで 一般的な 3 つのサンプルタイプ (DNA-50、RNA-40、ssDNA-33) を交互に使用する場合、最後に入力された Sample Type が保持された状態となります。濃度の算出についての詳細は、付録 "濃度の算出 (ベールの法則)" を参照してください。

  Oligo Calc オプションを選択すると、オリゴ配列を入力することができます。対象の配列に固有の分子量、モル吸光係数、および濃縮係数が表示されます。配列は他の資料から Oligo ボックスへカット＆ペーストすることができます。結果表示ページの Oligo ボックス左側のブラウズボタンを使用して、配列の調整を行ってください。

  Oligo Caluculator をスタンドアローンで使用する場合の詳細については、次のセクションをご覧ください。

- **nm 1 and nm 1 abs:** ユーザーの設定した波長カーソルと対応する吸光度 (10 mm 光路長相当) です。上下矢印の使用、もしくは希望する波長のタイピングにより、任意で波長を設定できます。注意: ユーザー任意の波長および吸光度を使用しての算出はできません。

- **A260:** 260 nm におけるサンプルの吸光度 (10 mm の光路長に換算して表示) です。注意: 本数値は、1 mm 光路長を用いた実測吸光度の 10 倍、また 0.2 mm 光路長を用いた実測吸光度の 50 倍となります。

- **A280:** 280 nm におけるサンプルの吸光度 (10 mm の光路長に換算して表示) です。注意: 本数値は、1 mm 光路長を用いた実測吸光度の 10 倍、また 0.2 mm 光路長を用いた実測吸光度の 50 倍となります。

- **260/280:** 260 nm と 280 nm におけるサンプルの吸光度比です。本数値は DNA と RNA の純度を表します。DNA では吸光度比 1.8 付近、また RNA では 2.0 付近を高純度と見なします。いずれの場合も、比率が低いと認められる場合、タンパク質、フェノール、または 280 nm 付近で強く吸光する他の不純物が存在する可能性を示します。本比率に影響を及ぼす可能性のある要素について、詳しくはトラブルシューティングの "260/280 吸光度比" をご覧ください。

- **260/230:** 260 nm と 230 nm におけるサンプルの吸光度比です。本比率は核酸純度に関する補足的な数値です。高純度な核酸の 260/230 比は、多くの場合 260/280 の値を上回ります。本値は、通常 1.8～2.2 の範囲となります。比率が範囲外となった場合には、不純物のある可能性を示します。

- **Concentration (ng/ul):** 260 nm での吸光度および選択した分析定数をベースに算出されたサンプル濃度です。濃度は Units ドロップダウンボックスで選んだ単位で表示されます。ソフトウェア立ち上げ時のデフォルトの単位は ng/uL です。濃度の算出について、詳しくは付録 “濃度の算出 (ベールの法則)” を参照してください。

- **Show Report:** 200 サンプルで設定されていますが、バッファサイズは変更可能です。

Oligo Calculator
Oligo Calculator では具体的な配列の入力と、入力した配列に関係するパラメーターの選択が可能です。

Oligo Calc サンプルタイプオプションを最初に選ぶと、以下のボックスが表示されます。

Oligo Property Calculator
Oligo Seq. AAATTTCCCGGG
Nucleic Acid DNA
Modification Weight 0.0
Phosphorylated
Double stranded
Mol. Weight (g/mol) 3.645E+3
% GC 50.00
Ext. Coeff (l/(mol*cm)) 1.280E+5
Conc. Factor (ng/ul) 28.48
# of bases 12
OK Cancel

Oligo Calculator では配列および関連する情報 (対象のオリゴがリン酸化されているか、二重鎖か、等) について設定することができます。画面下のボックスには入力した配列についての情報が自動的に入力されます。

スペクトルのノーマライズ
ほとんどゼロの吸光度になるべき 340 nm での吸光値に、ベースラインは自動的に設定されます。あらゆるスペクトルが、このゼロを基準としています。

Protein A280 測定モード

タンパク質は、核酸と異なり、著しい多様性を示します。紫外吸光法 (A280 法) は、精製されたタンパク質に適用され、280 nm における吸光度を示します。検量線の作成の必要が無く、そのままタンパク質サンプル濃度の測定ができます。本測定モードでは、220～350 nm の UV スペクトルが表示され、280 nm (A280) におけるタンパク質の吸光度と濃度 (mg/mL) が表示されます。核酸モードのように、高濃度のタンパク質では 0.2 mm の光路長に自動的に切り替わります。また、核酸モードと同様に、タンパク質 A280 モードでは 10 mm (1 cm) 相当のデータを画面表示、データファイルに保存します。

サンプルの必要量

タンパク質の中には、疎水性のものもあれば、親水性のものもあり、測定するサンプルによって表面張力は異なります。加えて、Bradford 試薬のように試薬内に界面活性剤等が存在すると、表面張力が大幅に変動し、液柱の形成が困難となる場合があります。サンプル量を増やすことにより、サンプルの吸光度に影響を与えることなく、以上の問題を解決することができます。タンパク質の測定では、2 uL 程度のサンプルをおすすめします。

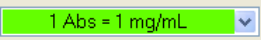
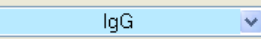
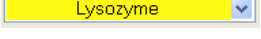
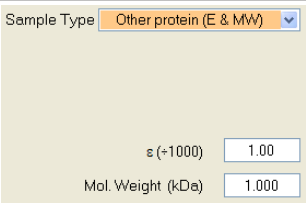
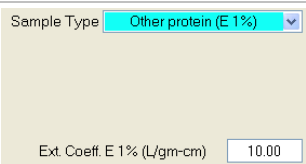
複数のサンプルをサンプル台に滴下する際は、ピペッティングの遅れによる蒸発を最小限に抑えるためにも、8 チャンネルピペッターを使用してください。分光光度計にサンプルをピペッティングした後は、速やかに測定を開始してください。測定の遅れは、精度に影響を与える場合があります。

タンパク測定後のクリーニング法

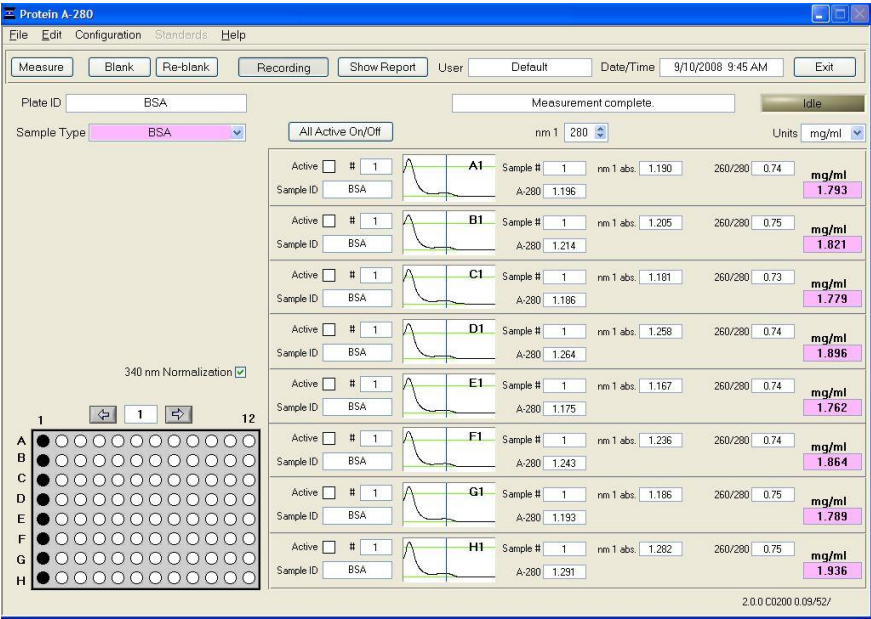
界面活性剤を含む溶液や試薬が測定台に残っていると、液柱を作りにくくなります。測定面の状態が悪化した場合は、乾いたラボペーパーで 30～40 回上下測定面を強く拭くことにより、測定面の状態が改善され、液柱が形成されます。

また、測定面改善の迅速な手段として、NanoDrop リコンディショニングキット (PR-1) を使用する方法もあります。PR-1 キットに関する詳細な情報については、www.nanodrop.com をご参照ください。

測定濃度の範囲

NanoDrop 8000 分光光度計では、タンパク質サンプルを最大 100 mg/mL (BSA) まで、希釈せずに正確に測定します。高濃度サンプルでは、本体が自動で高濃度を検知して、0.2 mm の光路長を使って吸光度を算定します。以下の表は NanoDrop 8000 で精製 BSA を測定した場合の濃度と典型的な再現性のリストとなっています。

サンプルタイプ	およその検出限界 (下限値)	およその検出限界 (上限値)	測定の繰り返し精度 (最少 96 replicates) (SD= mg/mL; CV= %)
Purified BSA	0.15 mg/ml	100 mg/ml	サンプル範囲 0.15-5 mg/mL: ±0.15 mg/mL サンプル範囲 >5 mg/mL: ±2.5%

Configuration ドロップダウンリストより Measurement Limit を選択することで、280 nm の吸光度から算定されるタンパク質の測定について、濃度の上限値と下限値を設定することができます。Measurement Limit はデフォルトとして設定できないので、測定モードを開くたびに設定する必要があります。設定した範囲から外れた測定は、Sample Position Illuminator 上の点滅ライトで示されます。Plate Summary の表示上でも、同様のサンプル濃度は赤くマークされます。Plate Summary をレビューし、繰り返し測定するサンプルにマークし、ウィンドウを閉じると、Sample Position Illuminator は点滅を停止します。

結果表示画面

- **Sample Type:** 精製タンパク質の分析と濃度の測定には、6 つのサンプルタイプから選択します。'Sample Type' ボックスをクリックすると、各サンプルタイプに表示が切り替わります。注意: 8 つのサンプルの濃度はすべて、Sample Type で決定した吸光係数を使用して算出します。各サンプルタイプの内容については、以下に記載します。

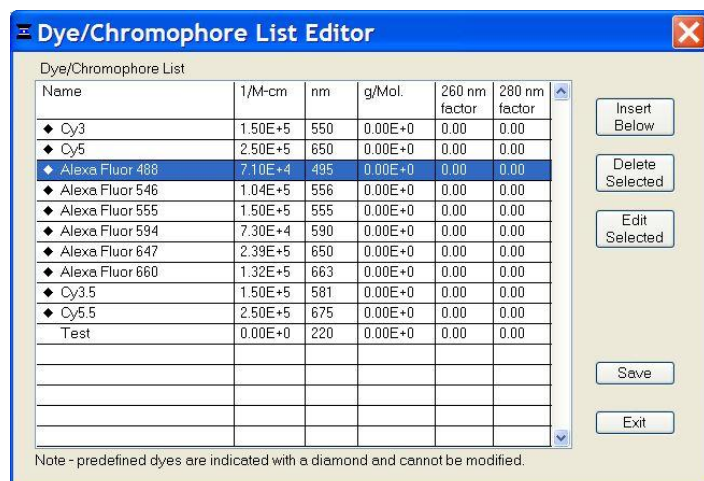
1 Abs = 1 mg/mL	280 nm において 1.0 A (光路長 10 mm) の吸光度を持つ、0.1% (1 mg/mL) のタンパク質溶液をベースとした標準的な基準。
BSA	Bovine Serum Albumin (牛血清アルブミン) 基準。1% (10 mg/mL) の BSA 溶液の 280 nm での吸光係数 6.7 を使用して、未知のタンパク質 (サンプル) 濃度を算出します。
IgG	IgG 基準。1% (10 mg/mL) の IgG 溶液の 280 nm での吸光係数 13.7 を使用して、未知のタンパク質 (サンプル) 濃度を算出します。
Lysozyme	Lysozyme (リゾチーム) 基準。280 nm での吸光係数 26.4 を使用して、未知のタンパク質 (サンプル) 濃度を算出します。
Sample Type: Other protein (E & MW) ε (÷1000) 1.00 Mol. Weight (kDa) 1.000	ユーザー入力のモル吸光係数 (M^{-1} cm^{-1}) とキロダルトンでの分子量 (M.W.) からタンパク質濃度を算出します。e の最大値は 999 X 1000 で、M.W. の最大値は 9999 X 1000 です。
Sample Type: Other protein (E 1%) Ext. Coeff. E 1% (L/gm-cm) 10.00	1% (10 mg/mL) 溶液の吸光係数 (L gm^{-1} cm^{-1}) をユーザーが入力し、タンパク質濃度を算出します。

- **nm 1 and nm 1 abs:** ユーザーの設定した波長カーソルと対応する吸光度です。上下矢印の使用、もしくは希望する波長のタイピングにより、設定できます。注意: ユーザー任意の波長および吸光度を使用しての算出はできません。

- **A280 10mm Path:** タンパク質サンプルの 280 nm における 10 mm 光路長相当の吸光度です。

- **A260/280:** 260 nm と 280 nm でのサンプル吸光度比です。
- **Concentration (mg/ml):** 280 nm での吸光度および選択した分析定数をベースに算出されたサンプル濃度です。濃度は Units ドロップダウンボックスで選んだ単位で表示されます。ソフトウェア立ち上げ時のデフォルトの単位は mg/mL です。濃度の算出について、詳しくは付録 “濃度の算出 (ベールの法則)” を参照してください。
- **Show Report:** 200 サンプルで設定されていますが、バッファサイズは変更可能です。

スペクトルのノーマライズ
ほとんどゼロの吸光度になるべき 340 nm での吸光値に、ベースラインは自動的に設定されます。ノーマライゼーション機能をオフにしない限り、あらゆるスペクトルが、このゼロを基準とします。

MicroArray 測定モード

DNA マイクロアレイで使用される蛍光標識されたプローブを測定することにより、標識効率を簡単に測定することができます。本測定モードでは、DNA 濃度と色素ラベリング効率の測定が容易に行えます。NanoDrop 8000 分光光度計では、2 種類までの 蛍光 dye の吸光度測定、および最少 0.2 pmol/uL の dye 濃度での検出が可能です。

蛍光 dye の選択

MicroArray モードで使用可能な蛍光 dye が多数プログラムされています。メインメニュー上の 'Dye-Chromophore Editor' ボタンを選択すると、プログラムされている dye に加えて、任意の蛍光 dye を入力・保存することもできます。

Dye の選択は、スクロールバーの使用、もしくは Dye ボックスのハイライトによって実行されます。各吸光波長、吸光係数、および 260 nm と 280 nm の % 修正値は、測定と濃度算出に自動的に使用されます。デフォルトの設定では、Dye 1 は Cy3、Dye 2 が Cy5 となっています。デフォルトの Dye を変更する場合は、メインページの Tools & Configuratiion タブから User Preferences ページを確認してください。

注意: ユーザー入力した dye に関する適切な調整値については、dye メーカーにお問い合わせください。

Dye/Chromophore List Editor

Dye/Chromophore List

Name	1/M-cm	nm	g/Mol.	260 nm factor	280 nm factor
◆ Cy3	1.50E+5	550	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Cy5	2.50E+5	650	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Alexa Fluor 488	7.10E+4	495	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Alexa Fluor 546	1.04E+5	556	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Alexa Fluor 555	1.50E+5	555	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Alexa Fluor 594	7.30E+4	590	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Alexa Fluor 647	2.39E+5	650	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Alexa Fluor 660	1.32E+5	663	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Cy3.5	1.50E+5	581	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Cy5.5	2.50E+5	675	0.00E+0	0.00	0.00
Test	0.00E+0	220	0.00E+0	0.00	0.00

Insert Below

Delete Selected

Edit Selected

Save

Exit

Note - predefined dyes are indicated with a diamond and cannot be modified.

サンプルの必要量

確実にサンプル液柱を形成するには、1 uL のサンプルで十分であることが分かっています。ただし、ピペッターの精度やサンプルの特性によって、1.5～2 uL のサンプルが必要となる場合もあります。

複数のサンプルをサンプル台に滴下する際は、ピペッティングの遅れによる蒸発を最小限に抑えるためにも、8 チャンネルピペッターを使用してください。分光光度計にサンプルをピペッティングした後は、速やかに測定を開始してください。測定の遅れは、精度に影響を与える場合があります。

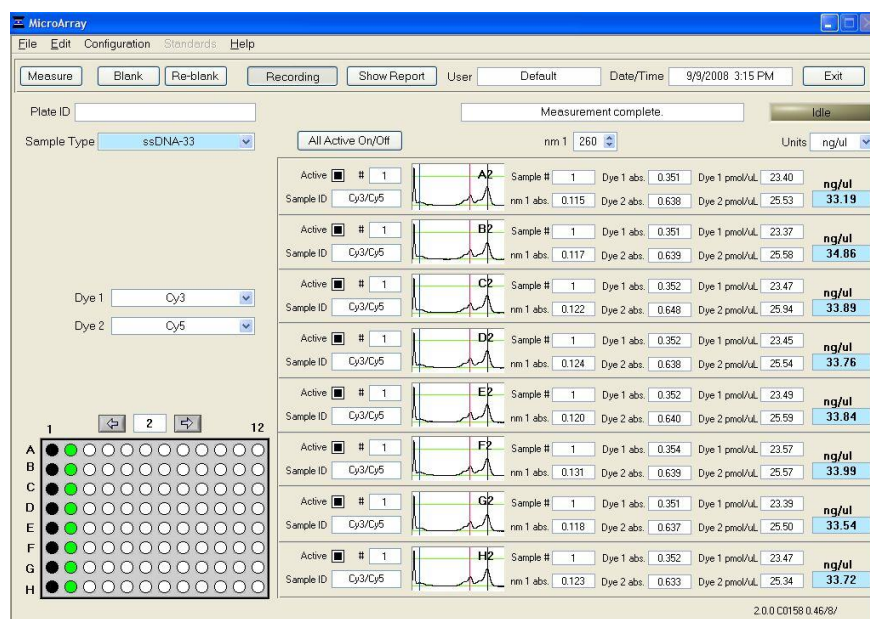
測定濃度の範囲

NanoDrop 8000 分光光度計では、蛍光色素と核酸の濃度をそれぞれ最大 100 pmol/uL (Cy3) と 750 ng/uL (DNA) まで、希釈せずに正確に測定します。以下の表はサンプル濃度の範囲となります。

サンプルタイプ	およその検出限界 (下限値) (pmol/uL)	およその検出限界 (上限値) (pmol/uL)	測定の繰り返し精度 (最少 48 replicates) (SD= pmol/uL; CV= %)
Cy3、Cy3.5、Alexa Fluor 555 および Alexa Fluor 660	0.25	100	サンプル範囲 0.25-4 pmol/uL: ±. 0.25 サンプル範囲 >4.0 pmol/uL: ± 2.5%
Cy5、Cy5.5 および Alexa Fluor 647	0.17	60	サンプル範囲 0.17-2.4 pmol/uL: ± 0.17 サンプル範囲 >2.4 pmol/uL: ± 2.5%
Alexa Fluor 488 および Alexa Fluor 594	0.50	215	サンプル範囲 0.50-8.0 pmol/uL: ±. 0.50 サンプル範囲 >8.0 pmol/uL: ± 2.5%
Alexa Fluor 546	0.42	145	サンプル範囲 0.42-6.0 pmol/uL: ±. 0.42 サンプル範囲 >6.0 pmol/uL: ± 2.5%

Configuration ドロップダウンリストより Measurement Limit を選択することで、260 nm の吸光度から算定される核酸濃度の上限値と下限値を設定することができます。Measurement Limit はデフォルトとして設定できないので、測定モードを開くたびに設定する必要があります。設定した範囲から外れた測定は、Sample Position Illuminator 上の点滅ライトで示されます。Plate Summary の表示上でも、同様のサンプル濃度は赤くマークされます。

Plate Summary をレビューし、繰り返し測定するサンプルにマークし、ウィンドウを閉じると、Sample Position Illuminator は点滅を停止します。

結果表示画面

- **Sample Type:** 測定する核酸の種類によって色分けされています。ユーザーは、dsDNA 用の ‘DNA-50’、RNA 用の ‘RNA-40’、一本鎖 DNA 用の ‘ssDNA-33’、あるいは他の核酸用の ‘Other’ を選択することができます。’Other’ を選択する場合、ユーザーは 15-150 間の吸光係数を選択します。MicroArray で 一般的な 3 つのサンプルタイプ (DNA-50、RNA-40、ssDNA-33) を交互に使用する場合、最後に入力された Sample Type が保持された状態となります。濃度の算出についての詳細は、付録 “濃度の算出 (ベールの法則)” を参照してください。
- **nm 1 and nm 1 abs:** ユーザーの設定した波長カーソルと対応する吸光値です。上下矢印の使用、もしくは希望する波長のタイピングにより、設定できます。注意: ユーザー任意の波長および吸光度を使用しての算出はできません。
- **Dye 1:** ユーザーの選択した dye です。
- **Dye 2:** ユーザーの選択した dye です。
- **Dye 1 (または 2) abs:** 選択した dye の 10 mm 光路長相当での吸光度です。
- **Concentration (ng/ul):** 260 nm での吸光度および選択した分析定数をベースに算出されたサンプル濃度です。濃度は Units ドロップダウンボックスで選んだ単位で表示されます。ソフトウェア立ち上げ時のデフォルトの単位は ng/uL です。濃度の算出について、詳しくは付録 “濃度の算出 (ベールの法則)” を参照してください。
- **Show Report:** 200 サンプルで設定されていますが、バッファサイズは変更可能です。

Oligo Calculator
Oligo Calculator では具体的な配列の入力と、入力した配列に関係するパラメーターの選択が可能です。
Oligo Calc サンプルタイプオプションを最初に選ぶと、以下のボックスが表示されます。

Oligo Property Calculator
Oligo Seq. AAATTTCCCGGG
Nucleic Acid DNA
Modification Weight 0.0
Phosphorylated
Double stranded
Mol. Weight (g/mol) 3.645E+3
% GC 50.00
Ext. Coeff (l/(mol*cm)) 1.280E+5
Conc. Factor (ng/ul) 28.48
# of bases 12
OK
Cancel

Oligo Calculator では配列および関連する情報 (対象のオリゴがリン酸化されているか、二重鎖か、等) について設定することができます。画面下のボックスには入力した配列についての情報が自動的に入力されます。

ベースラインの算定およびノーマライズ

ソフトウェアは、すべての検出データに関して、スペクトルの表示を 750 nm でノーマライズし、400 から 750 nm の間でベースラインを自動的に算定します。

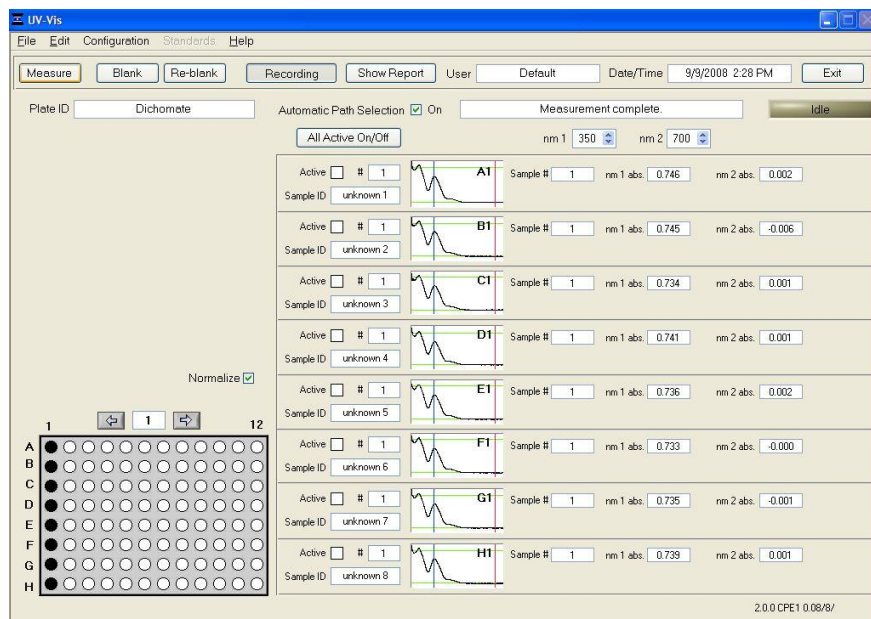
UV-VIS 測定モード

‘UV/VIS Absorbance’ モードでは、NanoDrop 8000 分光光度計を、220 nm～750 nm の全波長間での分光光度計として利用できます。画面に表示されるサンプルの吸光度は、カーソルで個々のピーク値を測定することができます。

サンプルの必要量
確実にサンプル液柱を形成するには、1 uL のサンプルで十分であることが分かっています。ただし、ピペッターの精度やサンプルの特性によって、1.5～2 uL のサンプルが必要となる場合もあります。

複数のサンプルをサンプル台に滴下する際は、ピペッティングの遅れによる蒸発を最小限に抑えるためにも、8 チャンネルピペッターを使用してください。分光光度計にサンプルをピペッティングした後は、速やかに測定を開始してください。測定の遅れは、精度に影響を与える場合があります。

測定濃度の範囲
NanoDrop 8000 分光光度計では、1 mm 光路長換算 (自動光路長選択による 2 mm 光路長を使用した場合) で 7.5 A 相当までの吸光度を測定できます。Configuration ドロップダウンリストより Measurement Limit を選択することで、ユーザー任意の 2 つの波長の低い方について、吸光値の上限値と下限値を設定することができます。Measurement Limit はデフォルトとして設定できないので、測定モードを開くたびに設定する必要があります。設定した範囲から外れたサンプル吸光値は、Sample Position Illuminator 上の点滅ライトで示されます。Plate Summary の表示上でも、同様のサンプル濃度は赤くマークされます。Plate Summary をレビューし、繰り返し測定するサンプルにマークし、ウィンドウを閉じると、Sample Position Illuminator は点滅を停止します。

結果表示画面

- **Automatic Path Selection:** 本機能を選択すると、2 つのカーソルで示されている 2 つの波長のいずれかの吸光値が 1.25 に達した際、ソフトウェアが自動的に、1.0 mm 光路長から 0.2 mm 光路長に切り替えます。

  注意: 測定を行う前に、対象の波長についてカーソル位置をあらかじめ設定する必要があります。吸光度の最小値の波長でカーソルをセットすると、0.2 mm 光路長を使用することができなくなります。

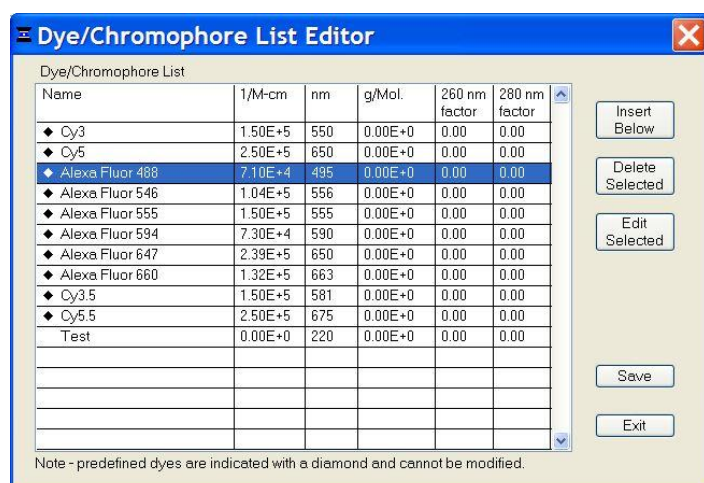
  注意: 0.2 mm 光路長を有効にすると、データは 1.0 mm 光路長にノーマライズされて、保存・表示されます。Users Preference で UV/Vis タブを使用することにより、本機能を無効にすることができます。

- **nm 1/abs1 および nm 2/abs2:** ユーザーの設定した波長カーソルと対応する吸光度 (1 mm 光路長) です。上下矢印の使用、もしくは希望する波長のタイピングにより、設定できます。デフォルトの波長は 300 nm と 700 nm です。

- **Normalize:** 本モードでは任意で選択できる機能です。本機能を選択すると、ソフトウェアが自動的に 400～700 nm の範囲での吸光値の最小値をベースにスペクトルをノーマライズします。

- **Show Report:** 200 サンプルで設定されていますが、バッファサイズは変更可能です。

Proteins & Labels 測定モード

本測定モードでは波長比を使用して、タンパク質濃度 (A280nm)、プロテインアレイに結合した fluorescent dye の標識効率、もしくは metalloprotein (ヘモグロビン等) の純度を測定します。

蛍光 dye の選択

現在、Proteins and Labels モードで使用可能な蛍光 dye は 10 種あります。Tools & Configuratiion タブ下の 'Dye-Chromophore Editor' ボタンを選択すると、あらかじめプログラムされている dye に加えて、任意の蛍光 dye を入力・保存することもできます。

NanoDrop 8000 分光光度計では、2 種類までの 蛍光 dye の吸光度測定、および最少 0.2 uM の dye 濃度の検出が可能です。

各吸光波長、吸光係数、および 280 nm の % 修正値は、測定と濃度算出に自動的に使用されます。デフォルトの設定は Cy3 となっています。ドロップダウンから選択可能な dye に加え、'None' も使用することができます。'None' を選択すると、dye は選択されません。

注意: ユーザー入力した dye に関する適切な調整値については、dye メーカーにお問い合わせください。

Dye/Chromophore List Editor

Dye/Chromophore List

Name	1/M-cm	nm	g/Mol.	260 nm factor	280 nm factor
◆ Cy3	1.50E+5	550	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Cy5	2.50E+5	650	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Alexa Fluor 488	7.10E+4	495	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Alexa Fluor 546	1.04E+5	556	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Alexa Fluor 555	1.50E+5	555	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Alexa Fluor 594	7.30E+4	590	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Alexa Fluor 647	2.39E+5	650	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Alexa Fluor 660	1.32E+5	663	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Cy3.5	1.50E+5	581	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Cy5.5	2.50E+5	675	0.00E+0	0.00	0.00
Test	0.00E+0	220	0.00E+0	0.00	0.00

Insert Below
Delete Selected
Edit Selected
Save
Exit

Note - predefined dyes are indicated with a diamond and cannot be modified.

サンプルの必要量

タンパク質の中には、疎水性のものもあれば、親水性のものもあり、測定するサンプルによって表面張力は異なります。加えて、Bradford 試薬のように試薬内に界面活性剤等が存在すると、表面張力が大幅に変動し、液柱の形成が困難となる場合があります。サンプル量を増やすことにより、サンプルの吸光度に影響を与えることなく、以上の問題を解決することができます。タンパク質の測定では、2 uL 程度のサンプルをおすすめします。

複数のサンプルをサンプル台に滴下する際は、ピペッティングの遅れによる蒸発を最小限に抑えるためにも、8 チャンネルピペッターを使用してください。分光光度計にサンプルをピペッティングした後は、速やかに測定を開始してください。測定の遅れは、精度に影響を与える場合があります。

タンパク測定後のクリーニング方法

界面活性剤を含む溶液や試薬が測定台に残っていると、液柱を作りにくくなります。測定面の状態が悪化した場合は、乾いたラボペーパーで 30～40 回上下測定面を強く拭くことにより、測定面の状態が改善され、液柱が形成されます。

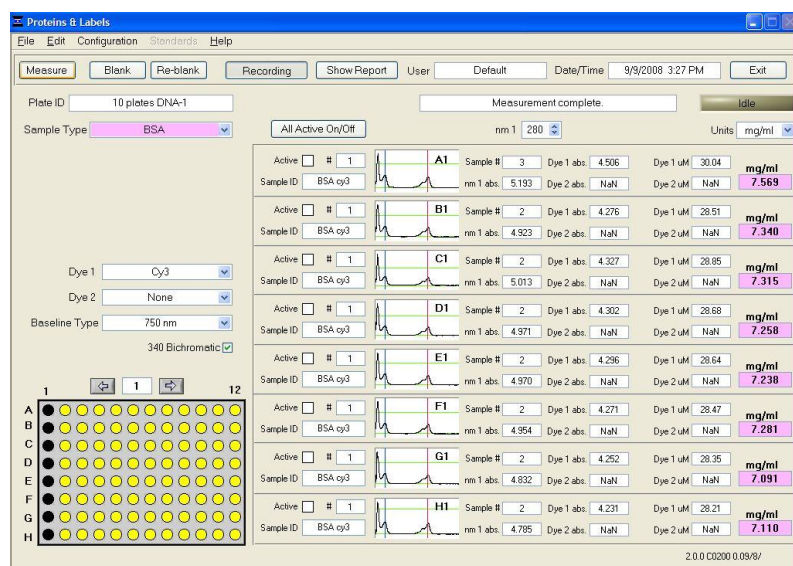
また、測定面改善の迅速な手段として、NanoDrop リコンディショニングキット (PR-1) を使用する方法もあります。PR-1 キットに関する詳細な情報については、www.nanodrop.com をご参照ください。

測定濃度の範囲

NanoDrop 8000 分光光度計では、タンパク質サンプルを最大 20 mg/mL (BSA) まで、希釈せずに正確に測定します。以下の表は NanoDrop 8000 での濃度範囲と典型的な再現性のリストとなっています。

サンプルタイプ	およその検出限界 (下限値)	およその検出限界 (上限値)	測定の繰り返し精度 (最少 5 replicates) (SD= mgl/mL; CV= %)
Purified BSA	0.15 mg/ml	20 mg/ml	sample range 0.15-5 mg/ml: ± 0.15 mg/ml sample range >10mg/ml: ± 2.5 %
Cy3	0.25 uM	100 uM	sample range 0.25-4 pmol/ul: ± 0.25 sample range >4.0 pmol/ul: ± 2.5 %

Configuration ドロップダウンリストより Measurement Limit を選択することで、280 nm での吸光度から算定されるタンパク質について、濃度の上限値と下限値を設定することができます。Measurement Limit はデフォルトとして設定できないので、測定モードを開くたびに設定する必要があります。設定した範囲から外れた測定は、Sample Position Illuminator 上の点滅ライトで示されます。Plate Summary の表示上でも、同様のサンプル濃度は赤くマークされます。Plate Summary をレビューし、繰り返し測定するサンプルにマークし、ウィンドウを閉じると、Sample Position Illuminator は点滅を停止します。

結果表示画面

- **Sample Type:** Proteins & Labels での濃度測定では、Protein A280 測定モードと同じ 6 つのサンプルタイプから選択することができます。'Sample Type' ボックスをクリックすると、各サンプルタイプに表示が切り替わります。各サンプルタイプの詳細については、Protein A280 測定モード をご覧ください。

- **nm 1 および nm 1 abs:** ユーザーの設定した波長カーソルと対応する吸光度です。上下矢印の使用、もしくは希望する波長のタイピングにより、設定できます。注意: ユーザー任意の波長および吸光度を使用しての算出はできません。

- **Dye 1:** ユーザーの選択した dye です。

- **Dye 2:** ユーザーの選択した dye です。

- **Dye 1 (または 2) abs:** 選択した dye の 10 mm 光路長相当での吸光度です。

- Dye の選択は、スクロールバーの使用、もしくは Dye ボックスのハイライトによって実行されます。各吸光波長、吸光係数、および 260 nm と 280 nm の % 修正値は、測定と濃度算出に自動的に使用されます。デフォルトの設定では、Dye 1 は Cy3、Dye 2 が Cy5 となっています。デフォルトの Dye を変更する場合は、メインページの Tools & Configuratiion タブから User Preferences ページを確認してください。

- **Concentration (ng/ul):** 280 nm での吸光度および選択した分析定数をベースに算出されたサンプル濃度です。濃度は Units ドロップダウンボックスで選んだ単位で表示されます。ソフトウェア立ち上げ時のデフォルトの単位は mg/mL です。濃度の算出について、詳しくは付録 "濃度の算出 (ベールの法則)" を参照してください。

- **Show Report:** 200 サンプルで設定されていますが、バッファサイズは変更可能です。

ベースラインのタイプ

本測定モードでは、'Baseline Type' を 2 種類から選択することができます。デフォルトの設定では表示スペクトルを 750 nm でノーマライズしています。また、400-750 Slope Baseline Type では 750 nm で表示をノーマライズし、400～750 nm の範囲でスロープ状のベースラインを適用します。ノーマライゼーション機能をオフにしない限り、A280 吸光度は 340 nm でノーマライズされます。

Protein BCA 測定モード

BCA (Bicinchoninic Acid) タンパク質定量法は、タンパク質濃度を測定する方法の一つです。より希釈されたタンパク質溶液や UV (280 nm) 吸光度の高い物質を伴う場合に頻繁に利用されます。タンパク質 A280 法とは異なり、BCA 定量法では、未知のタンパク質を測定する前に検量線の作成が必要となります。タンパク質と形成される Cu-BCA キレートは、562 nm で吸光度が測定され、750 nm でノーマライズされます。BCA および CuSO4 の調製済み試薬は、数多くのメーカーからキット形式での入手が可能です。各メーカーの説明書に従い、Standard やサンプルを調製してください。

サンプルの必要量

タンパク質の中には、疎水性のものもあれば、親水性のものもあり、測定するサンプルによって表面張力は異なります。加えて、Bradford 試薬のように試薬内に界面活性剤等が存在すると、表面張力が大幅に変動し、液柱の形成が困難となる場合があります。サンプル量を増やすことにより、サンプルの吸光度に影響を与えることなく、以上の問題を解決することができます。タンパク質の測定では、2 uL 程度のサンプルをおすすめします。

複数のサンプルをサンプル台に滴下する際は、ピペッティングの遅れによる蒸発を最小限に抑えるためにも、8 チャンネルピペッターを使用してください。分光光度計にサンプルをピペッティングした後は、速やかに測定を開始してください。測定の遅れは、精度に影響を与える場合があります。

タンパク測定後のクリーニング法

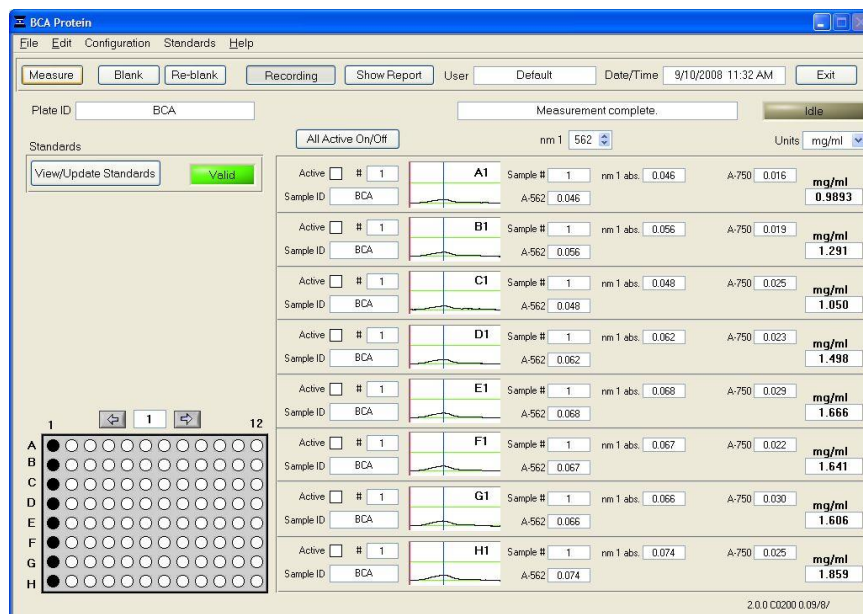
界面活性剤を含む溶液や試薬が測定台に残っていると、液柱を作りにくくなります。測定面の状態が悪化した場合は、乾いたラボペーパーで 30～40 回上下測定面を強く拭くことにより、測定面の状態が改善され、液柱が形成されます。

また、測定面改善の迅速な手段として、NanoDrop リコンディショニングキット (PR-1) を使用する方法もあります。PR-1 キットに関する詳細な情報については、www.nanodrop.com をご参照ください。

測定濃度の範囲

20 分の 1 希釈の試薬を使用する場合は、NanoDrop 8000 での BCA アッセイの検出濃度範囲は、0.20 mg/mL から 8.0 mg/mL となります。希釈なしでの試薬の場合は 0.01～0.20 mg/ml の範囲で測定可能です。

Configuration ドロップダウンリストより Measurement Limit を選択することで、562 nm で本メソッドを使用して測定したタンパク質 (mg/mL) について、濃度の上限値と下限値を設定することができます。Measurement Limit はデフォルトとして設定できないので、測定モードを開くたびに設定する必要があります。設定した範囲から外れた測定は、Sample Position Illuminator 上の点滅ライトで示されます。Plate Summary の表示上でも、同様のサンプル濃度は赤くマークされます。Plate Summary をレビューし、繰り返し測定するサンプルにマークし、ウィンドウを閉じると、Sample Position Illuminator は点滅を停止します。

結果表示画面

- **A 562nm:** 562 nm での Cu-BCA 錯体の吸光度 (1 mm 光路長) です。
- **nm 1 and nm 1 abs:** ユーザーの設定した波長カーソルと対応する吸光度 (1 mm 光路長) です。上下矢印の使用、もしくは希望する波長のタイピングにより、設定できます。注意: ユーザー任意の波長および吸光度を使用しての算出はできません。
- **mg/ml:** サンプル (未知) の濃度です。Unit ドロップダウンボックスから設定した単位で濃度は表示されます。
- **Show Report:** 200 サンプルで設定されていますが、バッファサイズは変更可能です。

BCA キット、プロトコル、およびサンプルの準備

推奨インキューベーション時間、および温度を含むアッセイ手順については、メーカーのプロトコルを参照してください。

キットの試薬に加え、検量線を作成するためのタンパク質 Standard (BSA) も各メーカーより提供されています。対象の分析範囲 (mg/mL) をカバーする Standard (BSA 等) で希釈系列サンプルを準備します。注意: NanoDopr 8000 ではより高濃度のタンパク質を測定することができるため、メーカー提供のものより高濃度のタンパク質を測定する場合は、ユーザーがタンパク質スタンダードを用意する必要があります。

BCA 測定の操作

キットの説明書に従い、BCA 法による測定を行う時は、その都度検量線の作成が必要となります。ソフトウェアでは、検量線の保存と読み込みが可能ですが、メーカーのキットの説明書に従い、測定の都度、検量線の作成を行うことをお勧めします。検量線の作成は、ソフトウェアに組み込まれています。検量線は Reference (タンパク質を含まない BCA 試薬) と Standard を使用して作成されます。マルチポイントの検量線では 7 つの異なる Standard につき 5 回まで測定できます。

モードの初期化が終了すると、以下のボックスが表示されます。

Choose Standards Source

Standards are required. Choose the Standard Curve source.

Load Standard Curve | New Standards Measurements | Cancel

事前に保存しておいた検量線の読み込み、もしくは新規検量線の作成を実行することができます。New Standards Measurements ボタンを選択すると、以下のダイアログボックスが表示されます。

Do you want to load the concentrations and curve type for generating a standard curve from a previously saved standard curve file?

Yes | No

Measurements Table　Double Click on any row to change the concentration or delete replicates.

	Standard	mg/ml	Ave Abs.	Abs. 1	Abs. 2	Abs. 3	Abs. 4	Abs. 5
Active	A - Reference	0.000						
Active	B - Standard 1	1.000						
Active	C - Standard 2	2.000						
Active	D - Standard 3	3.000						
Active	E - Standard 4	4.500						
Active	F - Standard 5	6.000						
Inactive	G - Standard 6							
Inactive	H - Standard 7							

Yes ボタンをクリックすると、実際の測定値を除いた Standard 系列のみがインポートされます (上図右参照)。本オプションはルーチンでの検量線の使用に大変便利です。'No' を選択すると、Standard 1-7 に関する新規の濃度値を入力することができます。Reference は 0.00 に設定されたままとなります。
Standards メニュードロップダウンで、保存している検量線の読み込み、新規検量線の作成、もしくは現行の検量線の表示を実行することができます。

Standards　Help

Load from file
Enter Standard Manually
View or Measure Standards

必要に応じて検量線の作成および修正を行う際は、下記の手順を参照してください。

- **各検量線の濃度の入力**
  Standard の左側に表示されている Active/Inactive ボックスのクリック、もしくは特定の Standard の行をダブルクリックすることによって、各 Standard の濃度を入力する Edit Standard ダイアログボックスが表示されます。また、本ボックスから Absorbance Replicate の削除、もしくはすべての Standard のリセットを行うこともできます。

  Edit one standard

  Standard　Standard 4
  mg/ml　1.000
  Average absorbance　0.249
  Abs. Replicates
  0.241
  0.250
  0.254
  0.257
  0.244
  Delete Selected | Reset Standard | OK | Cancel

  Standards メニューバーのドロップダウンリストを使用して、保存した検量線および検量線の濃度系列をロードすることも可能です。

- **検量線の測定**
  各 Standard は最大 5 個まで測定できます。本ソフトウェアでは最低でも 1 つの Standard と Reference 、もしくは 2 つの Standard が測定されるまで、サンプルの測定ができません。多項式フィッティングの場合は、選択した次数によって、必要とされる Standard ポイントの数が異なります。

BCA Protein Standard Curves

Measurements Table — Double Click on any row to change the concentration or delete replicates.

			mg/ml	Ave Abs.	Abs. 1	Abs. 2	Abs. 3	Abs. 4	Abs. 5
Active	■	A - Reference	0.00	0.008	0.007	0.007	0.002	0.010	0.015
Active	■	B - Standard 1	0.20	0.045	0.046	0.044	0.040	0.046	0.048
Active	■	C - Standard 2	0.40	0.099	0.103	0.099	0.094	0.100	0.098
Active	■	D - Standard 3	0.50	0.120	0.117	0.120	0.123	0.123	0.118
Active	■	E - Standard 4	1.00	0.210	0.211	0.205	0.215	0.213	0.207
Active	■	F - Standard 5	2.00	0.355	0.357	0.354	0.355	0.356	0.352
Active	■	G - Standard 6	4.00	0.591	0.593	0.591	0.593	0.590	0.586
Active	■	H - Standard 7	8.00	0.923	0.921	0.927	0.923	0.922	0.920

- **サンプルの測定**
  検量線が作成されると、灰色のインジケータライトが緑色になり、サンプルの測定を開始できます。最小限の条件である 2-ポイントの検量線の作成によって、測定は可能となります。サンプル濃度は未知のサンプルに隣接する 2 つの Standard 間での線形内挿 (linear interpolation)、または多項式フィッティング (polynomial fitting) を使用して、算出されます。注意: 未知サンプルの濃度は検量線の範囲を超えて測定することはできません。

BCA Protein Standard Curves

Measurements Table — Double Click on any row to change the concentration or delete replicates.

		Standard	mg/ml	Ave Abs.	Abs. 1	Abs. 2	Abs. 3	Abs. 4	Abs. 5
Active	■	A - Reference	0.00	0.008	0.007	0.007	0.002	0.010	0.015
Active	■	B - Standard 1	0.20	0.045	0.046	0.044	0.040	0.046	0.048
Active	■	C - Standard 2	0.40	0.099	0.103	0.099	0.094	0.100	0.098
Active	■	D - Standard 3	0.50	0.120	0.117	0.120	0.123	0.123	0.118
Active	■	E - Standard 4	1.00	0.210	0.211	0.205	0.215	0.213	0.207
Active	■	F - Standard 5	2.00	0.355	0.357	0.354	0.355	0.356	0.352
Active	■	G - Standard 6	4.00	0.591	0.593	0.591	0.593	0.590	0.586
Active	■	H - Standard 7	8.00	0.923	0.921	0.927	0.923	0.922	0.920

スタンダード BCA 検量線: 0.2 – 8.0 mg/ml

BCA Protein Standard Curves

File Standards Help

Print Page User Default 4/3/2007 2:37 PM Return to Sample Acquisition

1.0.T.2 C0014 0.18/28/8

Measurements Table Double Click on any row to change the concentration or delete replicates.

	Standard	mg/ml	Ave Abs.	Abs. 1	Abs. 2	Abs. 3	Abs. 4	Abs. 5
Active	A - Reference	0.00	-0.002	-0.004	-0.006	-0.003	-0.004	0.005
Active	B - Standard 1	0.01	0.018	0.017	0.015	0.019	0.019	0.022
Active	C - Standard 2	0.03	0.038	0.035	0.038	0.038	0.038	0.043
Inactive	D - Standard 3							
Active	E - Standard 4	0.10	0.134	0.132	0.133	0.134	0.136	0.135
Active	F - Standard 5	0.15	0.221	0.218	0.219	0.222	0.221	0.223
Active	G - Standard 6	0.20	0.275	0.273	0.275	0.277	0.275	0.276
Inactive	H - Standard 7							

Measure Blank Idle

Standard Curve Absorbance Spectra

Standard Curve Type Linear Valid R-squared 0.9965

mini-BCA 検量線:
0.01 – 0.20 mg/ml

BCA 測定モードの終了
全ての未知濃度サンプルの測定を終えるまでは、絶対に BCA 測定モードを終了しないでください。

Protein Lowry 測定モード

Lowry 改良法はタンパク質濃度測定法の一つで、広く用いられている Lowry 法をベースとしています。BCA や Bradford アッセイと同様に、Lowry 改良法も未知濃度のタンパク質測定の際に検量線の作成が必要となります。Lowry 改良法の手順には、アルカリ溶液中でのタンパク質と cupric sulfate の反応による、銅 – タンパク質錯体の生成を含みます。Folin-Ciocalteu 試薬はキレートされた銅錯体と反応し、650 nm で測定され、405 nm でノーマライズされる青い親水性の産物を生成します。下記アッセイで使用する試薬は多くのメーカーからキットの形で入手できます。使用に関しては各メーカーの指示に従ってください。

サンプルの必要量

タンパク質の中には、疎水性のものもあれば、親水性のものもあり、測定するサンプルによって表面張力は異なります。加えて、Bradford 試薬のように試薬内に界面活性剤等が存在すると、表面張力が大幅に変動することがあります。以上のような場合、サンプル量を増やすことにより、問題を解決することができます。タンパク質の測定では、2 uL 程度のサンプルをおすすめします。

複数のサンプルをサンプル台に滴下する際は、ピペッティングの遅れによる蒸発を最小限に抑えるためにも、8 チャンネルピペッターを使用してください。分光光度計にサンプルをピペッティングした後は、速やかに測定を開始してください。測定の遅れは、精度に影響を与える場合があります。

タンパク測定後のクリーニング法

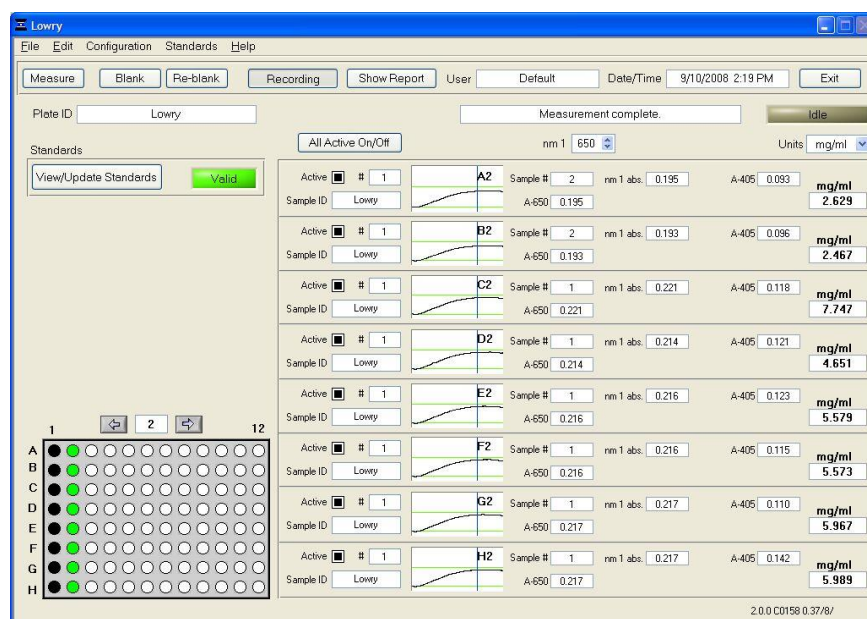
界面活性剤を含む溶液や試薬が測定台に残っていると、液柱を作りにくくなります。測定面の状態が悪化した場合は、乾いたラボペーパーで 30～40 回上下測定面を強く拭くことにより、測定面の状態が改善され、液柱が形成されます。

また、測定面改善の迅速な手段として、NanoDrop リコンディショニングキット (PR-1) を使用する方法もあります。PR-1 キットに関する詳細な情報については、www.nanodrop.com をご参照ください。

測定濃度の範囲

NanoDrop 8000 分光光度計では、Lowry 改良法で約 0.20 mg/ml から 8.0 mg/ml まで測定可能です。

Configuration ドロップダウンリストより Measurement Limit を選択することで、650 nm で本メソッドを使用して測定したタンパク質 (mg/mL) について、濃度の上限値と下限値を設定することができます。Measurement Limit はデフォルトとして設定できないので、測定モードを開くたびに設定する必要があります。設定した範囲から外れた測定は、Sample Position Illuminator 上の点滅ライトで示されます。Plate Summary の表示上でも、同様のサンプル濃度は赤くマークされます。Plate Summary をレビューし、繰り返し測定するサンプルにマークし、ウィンドウを閉じると、Sample Position Illuminator は点滅を停止します。

結果表示画面

- **A 650nm:** 650 nm での Cu- 錯体の吸光度 (1 mm 光路長) です。
- **nm 1 and nm 1 abs:** ユーザーの設定した波長カーソルと対応する吸光度です。上下矢印の使用、もしくは希望する波長のタイピングにより、設定できます。注意: ユーザー任意の波長および吸光度を使用しての算出はできません。
- **mg/ml:** サンプルの濃度です。Unit ドロップダウンボックスから設定した単位で濃度は表示されます。
- **Show Report:** 200 サンプルで設定されていますが、バッファサイズは変更可能です。

Lowry 改良法キット、プロトコルおよびサンプルの準備
推奨インキューベーション時間、および温度を含むアッセイ手順については、メーカーのプロトコルを参照してください。

キットの試薬に加え、検量線を作成するためのタンパク質スタンダード (BSA) も各メーカーより提供されています。反応の推奨時間および温度をはじめ、定量に関しては、各メーカーのプロトコルに従ってください。加えて、対象の分析範囲 (mg/mL) をカバーするスタンダード (BSA 等) で希釈系列サンプルを準備します。注意: NanoDrop 8000 ではより高濃度のタンパク質を測定することができるため、メーカー提供のものより高濃度のタンパク質を測定する場合は、ユーザーがタンパク質スタンダードを用意する必要があります。

Lowry 測定の操作
Lowry 改良法による測定を行う時は、その都度検量線の作成が必要となります。ソフトウェアでは、検量線の保存と読み込みが可能ですが、メーカーのキットの説明書に従い、測定の都度、検量線の作成を行うことをお勧めします。検量線の作成は、ソフトウェアに組み込まれています。検量線は Reference (タンパク質を含まない Lowry 改良法試薬) と Standard を使用して作成されます。マルチポイントの検量線では 7 つの異なる Standard につき 5 回まで測定できます。

モードの初期化が終了すると、以下のボックスが表示されます。

事前に保存しておいた検量線の読み込み、もしくは新規検量線の作成を実行することができます。New Standards Measurements ボタンを選択すると、以下のダイアログボックスが表示されます。

Yes ボタンをクリックすると、実際の測定値を除いた Standard 系列のみがインポートされます (上図右参照)。本オプションはルーチンでの検量線の使用に大変便利です。'No' を選択すると、Standard 1-7 に関する新規の濃度値を入力することができます。Reference は 0.00 に設定されたままとなります。
Standards メニュードロップダウンで、保存している検量線の読み込み、新規検量線の作成、もしくは現行の検量線の表示を実行することができます。

必要に応じて検量線の作成および修正を行う際は、下記の手順を参照してください。

- **各検量線の濃度の入力**
  Standard の左側に表示されている Active/Inactive ボックスのクリック、もしくは特定の Standard の行をダブルクリックすることによって、各 Standard の濃度を入力する Edit Standard ダイアログボックスが表示されます。本ボックスでは Absorbance Replicate の削除、もしくは入力した検量線のリセットを行うこともできます。

  Standards メニューバーのドロップダウンリストを使用して、保存した検量線および検量線の濃度系列をロードすることも可能です。

- **検量線の測定**
  各 Standard は最大 5 個まで測定できます。本ソフトウェアでは最低でも 1 つの Standard と Reference、もしくは 2 つの Standard が測定されるまで、サンプルの測定ができません。多項式フィッティングの場合は、選択した次数によって、必要とされる Standard ポイントの数が異なります。

Measurements Table — Double Click on any row to change the concentration or delete replicates.

	Standard	mg/ml	Ave Abs.	Abs. 1	Abs. 2	Abs. 3	Abs. 4	Abs. 5
Active	A - Reference	0.000	-0.004	-0.005	-0.002	-0.005	-0.004	-0.004
Active	B - Standard 1	0.1250	0.027	0.025	0.028	0.026	0.028	0.028
Active	C - Standard 2	0.2500	0.047	0.045	0.045	0.046	0.048	0.049
Active	D - Standard 3	0.5000	0.080	0.074	0.079	0.083	0.083	0.083
Active	E - Standard 4	1.000	0.132	0.130	0.131	0.133	0.133	0.132
Active	F - Standard 5	2.000	0.187	0.184	0.187	0.187	0.188	0.188
Active	G - Standard 6	4.000	0.212	0.208	0.212	0.212	0.214	0.216
Active	H - Standard 7	8.000	0.221	0.218	0.224	0.220	0.222	0.221

- **サンプルの測定**
  検量線が作成されると、灰色のインジケータライトが緑色になり、サンプルの測定を開始できます。最小限の条件である 2-ポイントの検量線の作成によって、測定は可能となります。サンプル濃度は未知のサンプルに隣接する 2 つの Standard 間での線形内挿 (linear interpolation)、または多項式フィッティング (polynomial fitting) を使用して、算出されます。注意: 未知サンプルの濃度は検量線の範囲を超えて測定することはできません。

	Standard	mg/ml	Ave Abs.	Abs. 1	Abs. 2	Abs. 3	Abs. 4	Abs. 5
Active	A - Reference	0.000	-0.004	-0.005	-0.002	-0.005	-0.004	-0.004
Active	B - Standard 1	0.1250	0.027	0.025	0.028	0.026	0.028	0.028
Active	C - Standard 2	0.2500	0.047	0.045	0.045	0.046	0.048	0.049
Active	D - Standard 3	0.5000	0.080	0.074	0.079	0.083	0.083	0.083
Active	E - Standard 4	1.000	0.132	0.130	0.131	0.133	0.133	0.132
Active	F - Standard 5	2.000	0.187	0.184	0.187	0.187	0.188	0.188
Active	G - Standard 6	4.000	0.212	0.208	0.212	0.212	0.214	0.216
Active	H - Standard 7	8.000	0.221	0.218	0.224	0.220	0.222	0.221

Lowry 改良法検量線:
0.2 – 4.0 mg/ml

Lowry 測定モードの終了
全ての未知濃度サンプルの測定を終えるまでは、絶対に Lowry 測定モードを終了しないでください。

Protein Bradford 測定モード

Bradford 定量法も、タンパク質濃度の測定によく利用される方法の一つです。より低い検出感度の要求される低濃度タンパク質溶液や UV (280 nm) 吸光度の高い物質のある場合に、よく利用されます。BCA 法と同様に、Bradford 法では未知濃度のタンパク質を測定する前に、検量線の作成が必要となります。

BCA-Cu キレートをモニターする BCA 定量法と異なり、Bradford 法ではタンパク質が誘発するクマシーブルー色素の吸光度の 595 nm へのシフトをタンパク質濃度の尺度として使用します。タンパク質-色素合成物は 595 nm で測定され、750 nm でノーマライズされます。クマシーブルー、アルコール、および界面活性剤を含有する安定試薬混合液が多くのメーカーからキットの形で入手できます。使用に関しては各メーカーの指示に従ってください。

サンプルの必要量
タンパク質の中には、疎水性のものもあれば、親水性のものもあり、測定するサンプルによって表面張力は異なります。加えて、Bradford 試薬のように試薬内に界面活性剤等が存在すると、表面張力が大幅に変動することがあります。以上のような場合、サンプル量を増やすことにより、問題を解決することができます。タンパク質の測定では、2 uL 程度のサンプルをおすすめします。

複数のサンプルをサンプル台に滴下する際は、ピペッティングの遅れによる蒸発を最小限に抑えるためにも、8 チャンネルピペッターを使用してください。分光光度計にサンプルをピペッティングした後は、速やかに測定を開始してください。測定の遅れは、精度に影響を与える場合があります。

タンパク質測定後のクリーニング方法
界面活性剤を含む溶液や試薬が測定台に残っていると、液柱を作りにくくなります。測定面の状態が悪化した場合は、乾いたラボペーパーで 30～40 回上下測定面を強く拭くことにより、測定面の状態が改善され、液柱が形成されます。

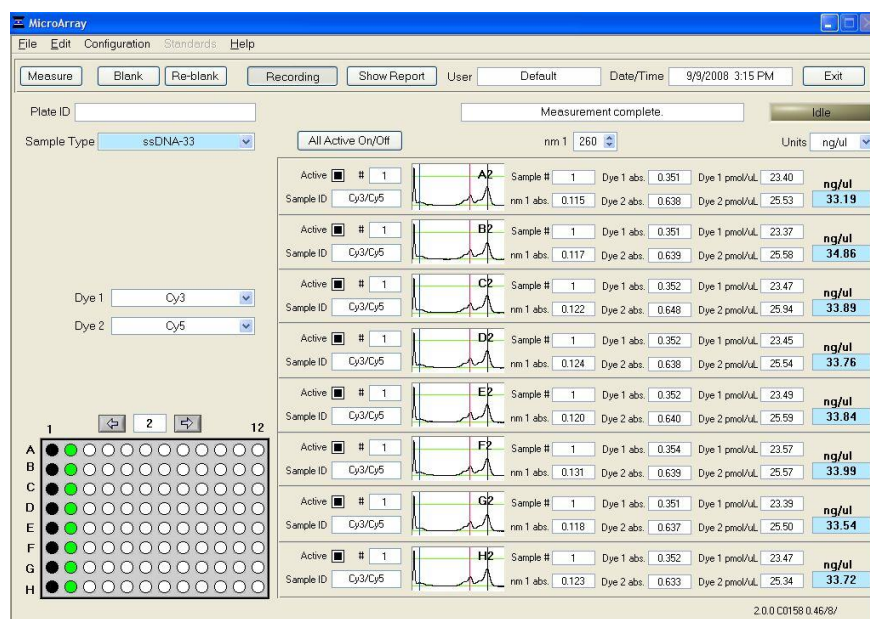
また、測定面改善の迅速な手段として、NanoDrop リコンディショニングキット (PR-1) を使用する方法もあります。PR-1 キットに関する詳細な情報については、www.nanodrop.com をご参照ください。

測定濃度の範囲

NanoDrop 8000 分光光度計では、標準の Bradford 法を使用して、約 100 ug/mL から 8000 ug/mL までの未知濃度のタンパク質を測定することができます。100-1000 ug/mL の範囲で直線性が最も優れています。mini Bradford アッセイでの濃度範囲は 15 ug/mL から 125 ug/mL までとなります。

Configuration ドロップダウンリストより Measurement Limit を選択することで、595 nm で本メソッドを使用して測定したタンパク質 (mg/mL) について、濃度の上限値と下限値を設定することができます。Measurement Limit はデフォルトとして設定できないので、測定モードを開くたびに設定する必要があります。設定した範囲から外れた測定は、Sample Position Illuminator 上の点滅ライトで示されます。Plate Summary の表示上でも、同様のサンプル濃度は赤くマークされます。Plate Summary をレビューし、繰り返し測定するサンプルにマークし、ウィンドウを閉じると、Sample Position Illuminator は点滅を停止します。

クマシー色素-色素、およびクマシー色素-タンパク質のアグリゲートは、クマシー色素ベースのタンパク質アッセイで頻繁に目にします。時間の経過にともない、吸光度の検出に大きなズレを引き起こす可能性のある微粒子が生じる場合があります。1 mm 光路長、Bradford (クマシーブルー色素) 試薬の濃度、および酸性 pH での結果として、595 nm での全検体 (タンパク質-色素) シグナルは、約 0.150 A までとされることに注意してください。Bradford アッセイで特に限られたアッセイシグナルの場合は、スタンダードとサンプルの測定を 3 回繰り返すことをお勧めします。

結果表示画面

- **A 595nm:** 595 nm でのタンパク質 – 色素合成物の吸光度 (1 mm 光路長) です。
- **nm 1 and nm 1 abs:** ユーザーの設定した波長カーソルと対応する吸光度です。上下矢印の使用、もしくは希望する波長のタイピングにより、設定できます。注意: ユーザー任意の波長および吸光度を使用しての算出はできません。
- **mg/ml:** サンプルの濃度です。Unit ドロップダウンボックスから設定した単位で濃度は表示されます。
- **Show Report:** 200 サンプルで設定されていますが、バッファサイズは変更可能です。

Bradford キット、プロトコル、およびサンプルの準備
推奨インキューベーション時間、および温度を含むアッセイ手順については、メーカーのプロトコルを参照してください。提示されている時間枠よりも長い時間インキュベーションすることで、アグリゲートを妨害する可能性が増します。より高濃度のタンパク質では、色素もしくは色素-タンパク質アグリゲートが散乱光に干渉する可能性が増大します。

キットの試薬に加え、検量線を作成するためのタンパク質スタンダード (BSA) も各メーカーより提供されています。反応の推奨時間および温度をはじめ、定量に関しては、各メーカーのプロトコルに従ってください。加えて、対象の分析範囲 (mg/mL) をカバーするスタンダード (BSA 等) で希釈系列サンプルを準備します。注意: NanoDrop 8000 ではより高濃度のタンパク質を測定することができるため、メーカー提供のものより高濃度のタンパク質を測定する場合は、ユーザーがタンパク質スタンダードを用意する必要があります。

異なるキット間での差異
Coomassie G-250 と Pierce Coomassie Plus Protein Assay キットを比較すると、予備的な結果では、最適なインキュベーションタイム後に直接サンプルを測定した場合、3 回繰り返した測定間で Coomassie Plus Protein Assay の方が通常の G-250 染色より高い再現性を示します。

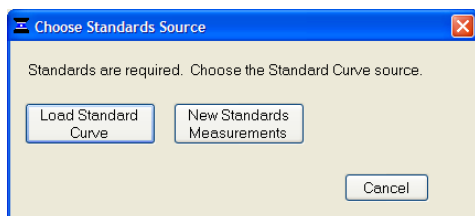
Bradford タンパク質測定の操作
Bradford 法による測定を行う時は、その都度検量線の作成が必要となります。ソフトウェアでは、検量線の保存と読み込みが可能ですが、メーカーのキットの説明書に従い、測定の都度、検量線の作成を行うことをお勧めし

ます。検量線の作成は、ソフトウェアに組み込まれています。検量線は Reference (タンパク質を含まない Lowry 改良法試薬) と Standard を使用して作成されます。マルチポイントの検量線では 7 つの異なる Standard につき 5 回まで測定できます。

モードの初期化が終了すると、以下のボックスが表示されます。

Choose Standards Source

Standards are required. Choose the Standard Curve source.

Load Standard Curve | New Standards Measurements | Cancel

事前に保存しておいた検量線の読み込み、もしくは新規検量線の作成を実行することができます。New Standards Measurements ボタンを選択すると、以下の図が表示されます。

Do you want to load the concentrations and curve type for generating a standard curve from a previously saved standard curve file?

Yes | No

Measurements Table — Double Click on any row to change the concentration or delete replicates.

		Standard	mg/ml	Ave Abs.	Abs. 1	Abs. 2	Abs. 3	Abs. 4	Abs. 5
Active	■	A - Reference	0.000						
Active	■	B - Standard 1	1.000						
Active	■	C - Standard 2	2.000						
Active	■	D - Standard 3	3.000						
Active	■	E - Standard 4	4.500						
Active	■	F - Standard 5	6.000						
Inactive		G - Standard 6							
Inactive		H - Standard 7							

Yes ボタンをクリックすると、実際の測定値を除いた Standard 系列のみがインポートされます (上図右参照)。本オプションはルーチンでの検量線の使用に大変便利です。'No' を選択すると、Standard 1-7 に関する新規の濃度値を入力することができます。Reference は 0.00 に設定されたままとなります。

Standards メニュードロップダウンで、保存している検量線の読み込み、新規検量線の作成、もしくは現行の検量線の表示を実行することができます。

File Edit Configuration Standards Help

Measure | Blank | Load from file | View or Measure Standards | Show Report

必要に応じて検量線の作成および修正を行う際は、下記の手順を参照してください。

- **各検量線の濃度の入力**
  Standard の左側に表示されている Active/Inactive ボックスのクリック、もしくは特定の Standard の行をダブルクリックすることによって、各 Standard の濃度を入力する Edit Standard ダイアログボックスが表示されます。本ボックスでは Absorbance Replicate の削除、もしくはすべての Standard のリセットを行うこともできます。

Edit one standard

Standard: Standard 4

ug/ml: 1000.0

Average absorbance: 0.124

Abs. Replicates: 0.122, 0.123, 0.129, 0.123, 0.125

Delete Selected | Reset Standard | OK | Cancel

Standards メニューバーのドロップダウンリストを使用して、保存した検量線および検量線の濃度系列をロードすることも可能です。

- **検量線の測定**
  各 Standard は最大 5 個まで測定できます。本ソフトウェアでは最低でも 1 つの Standard と Reference 、もしくは 2 つの Standard が測定されるまで、サンプルの測定ができません。多項式フィッティングの場合は、選択した次数によって、必要とされる Standard ポイントの数が異なります。

Bradford Standard Curves

File Standards Help

Print Page User Default 4/23/2007 10:01 AM Return to Sample Acquisition

1.0 C0103 0.56/28/8

Measure Blank Idle

Measurements Table Double Click on any row to change the concentration or delete replicates.

	Standard	ug/ml	Ave Abs.	Abs. 1	Abs. 2	Abs. 3	Abs. 4	Abs. 5
Active	A - Reference	0.0	0.047	0.041	0.054	0.049	0.045	0.047
Active	B - Standard 1	100.0	0.057	0.052	0.059	0.057	0.059	0.060
Active	C - Standard 2	200.0	0.066	0.060	0.070	0.067	0.067	0.068
Active	D - Standard 3	500.0	0.096	0.090	0.104	0.094	0.094	0.097
Active	E - Standard 4	1000.0	0.124	0.122	0.123	0.129	0.123	0.125
Active	F - Standard 5	2000.0	0.144	0.137	0.148	0.144	0.146	0.144
Active	G - Standard 6	4000.0	0.179	0.168	0.185	0.176	0.179	0.187
Active	H - Standard 7	8000.0	0.205	0.195	0.206	0.204	0.211	0.207

Standard Curve Absorbance Spectra

Ch. A Ch. B Ch. C Ch. D Ch. E Ch. F Ch. G Ch. H

Abs 0.0 0.1 0.2 0.2

575 600 625 650 675 700 725 750

Wavelength

- **サンプルの測定**
  検量線が作成されると、灰色のインジケータライトが緑色になり、サンプルの測定を開始できます。最小限の条件である 2-ポイントの検量線の作成によって、測定は可能となります。サンプル濃度は未知のサンプルに隣接する 2 つの Standard 間での線形内挿 (linear interpolation)、または多項式フィッティング (polynomial fitting) を使用して、算出されます。注意: 未知サンプルの濃度は検量線の範囲を超えて測定することはできません。

Bradford Standard Curves

File Standards Help

Print Page User Default 4/3/2007 2:43 PM Return to Sample Acquisition

Measure Blank Idle

Measurements Table Double Click on any row to change the concentration or delete replicates.

		ug/ml	Ave Abs.	Abs. 1	Abs. 2	Abs. 3	Abs. 4	Abs. 5
Active	A - Reference	0.00	0.044	0.040	0.040	0.047	0.047	0.044
Active	B - Standard 1	100.00	0.048	0.046	0.046	0.047	0.051	0.050
Active	C - Standard 2	200.00	0.064	0.061	0.061	0.067	0.063	0.067
Active	D - Standard 3	500.00	0.091	0.085	0.088	0.090	0.096	0.094
Active	E - Standard 4	1000.00	0.120	0.124	0.119	0.120	0.119	0.119
Active	F - Standard 5	2000.00	0.158	0.160	0.148	0.161	0.160	0.161
Active	G - Standard 6	4000.00	0.191	0.186	0.186	0.195	0.196	0.194
Active	H - Standard 7	8000.00	0.202	0.202	0.198	0.201	0.201	0.206

Standard Curve Absorbance Spectra

Standard Curve Type Interpolation Valid R-squared 0.9967

Abs 0.0 0.1 0.2 0.3

0.0E+0 1.0E+3 2.0E+3 3.0E+3 4.0E+3 5.0E+3 6.0E+3 7.0E+3 8.0E+3

ug/ml

通常の Bradford 曲線は 100 – 8000 ug/mL をカバーします。注意: 直線範囲は 100-1000 ug/mL です。

ミニ Bradford アッセイでは、およそ 15-100 ug/mL をカバーします。

Bradford 測定モードの終了

全ての未知濃度サンプルの測定を終えるまでは、絶対に Bradford 測定モードを終了しないでください。

Protein Pierce 660nm 測定モード

Thermo Scientific Pierce 660 nm Protein Assay 試薬は溶液中の微量タンパク質について、迅速、正確、かつ再現性のある比色定量を実現する試薬キットです。本試薬は、還元剤および界面活性剤を含むサンプル中の総タンパク質濃度の測定に最適となっております。

サンプルの必要量

タンパク質の中には、疎水性のものもあれば、親水性のものもあり、測定するサンプルによって表面張力は異なります。加えて、Bradford 試薬のように試薬内に界面活性剤等が存在すると、表面張力が大幅に変動することがあります。以上のような場合、サンプル量を増やすことにより、問題を解決することができます。タンパク質の測定では、2 uL 程度のサンプルをおすすめします。

複数のサンプルをサンプル台に滴下する際は、ピペッティングの遅れによる蒸発を最小限に抑えるためにも、8 チャンネルピペッターを使用してください。分光光度計にサンプルをピペッティングした後は、速やかに測定を開始してください。測定の遅れは、精度に影響を与える場合があります。

測定濃度の範囲

本アッセイは、試薬/サンプル比 15:1 で使用した場合、BSA のリニアレンジが 50-2000 ug/mL となります。

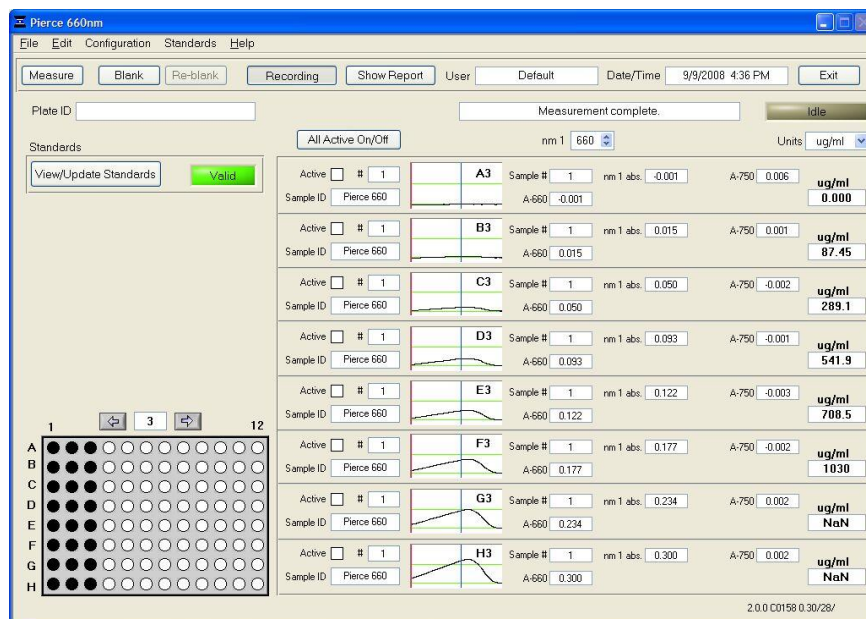
アッセイタイプ	およその 検出限界 (下限値)	およその 検出限界 (上限値)	測定の繰り返し精度 (最低 5 反復) (SD= mg/mL; CV= %)
15:1	50 ug/ml	2000 ug/ml	± 5% (レンジ全体を通じて)

適切に Standard を用意するためには、Pierce 660 nm 試薬 60 µL に対して、最小値 4 µL のサンプルの使用が推奨されます。

反応の推奨時間および温度をはじめ、定量に関しては、各メーカーのプロトコルに従ってください。加えて、対象の分析範囲 (mg/mL) をカバーするスタンダード (BSA 等) で希釈系列サンプルを準備します。

注意: NanoDrop 8000 ではより高濃度のタンパク質を測定することができるため、メーカー提供のものより高濃度のタンパク質を測定する場合は、ユーザーがタンパク質スタンダードを用意する必要があります。

Configuration ドロップダウンリストより Measurement Limit を選択することで、660 nm で本メソッドを使用して測定したタンパク質 (mg/mL) について、濃度の上限値と下限値を設定することができます。Measurement Limit はデフォルトとして設定できないので、測定モードを開くたびに設定する必要があります。設定した範囲から外れた測定は、Sample Position Illuminator 上の点滅ライトで示されます。Plate Summary の表示上でも、同様のサンプル濃度は赤くマークされます。Plate Summary をレビューし、繰り返し測定するサンプルにマークし、ウィンドウを閉じると、Sample Position Illuminator は点滅を停止します。

結果表示画面

- **A660 nm:** タンパク質 - dye 化合物の 660 nm における吸光度 (1 mm 光路長相当) です。
- **nm 1 および nm 1 abs:** ユーザーの設定した波長カーソルと対応する吸光度です。上下矢印の使用、もしくは希望する波長のタイピングにより、設定できます。注意: ユーザー任意の波長および吸光度を使用しての算出はできません。
- **ug/ml:** サンプル (未知) の濃度です。
- **Show Report:** 200 サンプルで設定されていますが、バッファサイズは変更可能です。

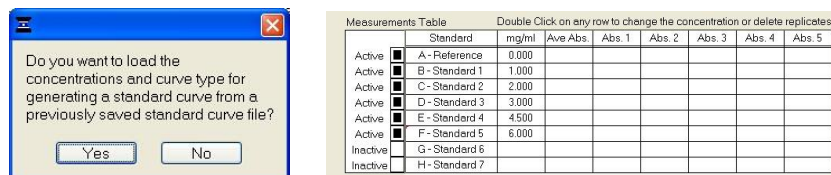
Pierce 660 nm タンパク質測定の操作
Pierce 660 nm アッセイを実行する際は、その都度、検量線の作成が必要となります。ソフトウェアでは、検量線の保存と読み込みが可能ですが、アッセイ実行時の保存検量線の使用に関しては、メーカーのガイドラインに従うことをお勧めします。また、検量線 “セットアップ” の読み込みも可能です。本機能により、以前保存した検量線で使用した Standard 系列 を読み込むことができます。検量線の作成は、ソフトウェアに組み込まれています。

検量線は Reference (タンパク質を含まない試薬のみ) と Standard を使用して作成されます。マルチポイントの検量線では、7 つの異なる Standard のそれぞれについて、5 回まで測定できます。

検量線の作成を実行する前に、Blank の測定を行う必要があります。Blank および “0” Reference サンプルとして、タンパク質を含まない dye 試薬を使用することをお勧めします。

注意: NanoDrop 8000 を使用する他の比色定量と異なり、本アッセイでは Blank としての水の使用は推奨されません。

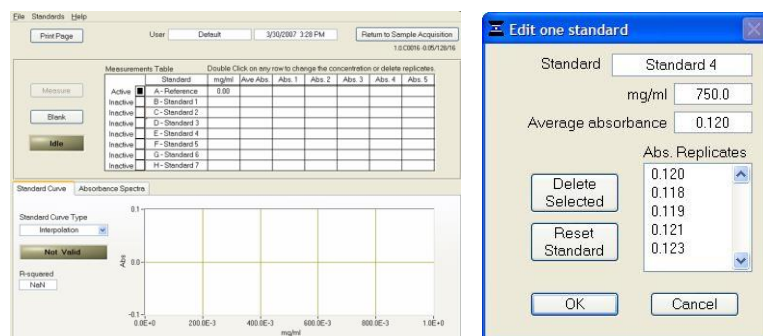
モードの初期化が終了すると、以下のボックスが表示されます。

事前に保存しておいた検量線の読み込み、もしくは新規検量線の作成を実行することができます。New Standards Measurements ボタンを選択すると、以下のダイアログボックスが表示されます。

Yes ボタンをクリックすると、実際の測定値を除いた Standard 系列のみがインポートされます (上図右参照)。本オプションはルーチンでの検量線の使用に大変便利です。'No' を選択すると、Standard 1-7 に関する新規の濃度値を入力することができます。Reference は 0.00 に設定されたままとなります。

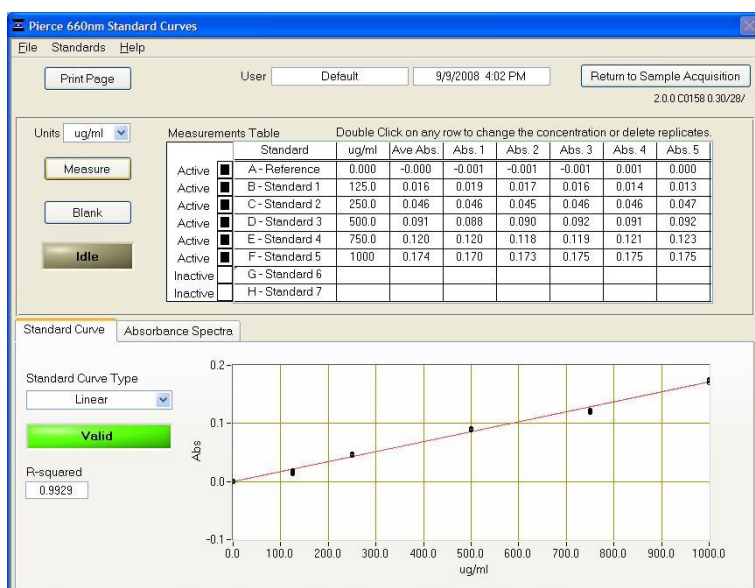
試薬メーカーより提供された、規定の濃度および吸光度を入力する場合は、Enter Standards Manually ボタンを使用します。

Standards メニュードロップダウンで、保存している検量線の読み込み、新規検量線の作成、もしくは現行の検量線の表示を実行することができます。

必要に応じて検量線の作成および修正を行う際は、下記の手順を参照してください。

- **各検量線の濃度の入力**
  Standard の左側に表示されている Active/Inactive ボックスのクリック、もしくは特定の Standard の行をダブルクリックすることによって、各 Standard の濃度を入力する Edit Standard ダイアログボックスが表示されます。本ボックスでは Absorbance Replicate の削除、もしくはすべての Standard のリセットを行うこともできます。

  Standards メニューバーのドロップダウンリストを使用して、保存した検量線および検量線の濃度系列をロードすることも可能です。

- **検量線の測定**
  各 Standard は最大 5 個まで測定できます。本ソフトウェアでは最低でも 1 つの Standard と Reference、もしくは 2 つの Standard が測定されるまで、サンプルの測定ができません。多項式フィッティングの場合は、選択した次数によって、必要とされる Standard ポイントの数が異なります。

- **サンプルの測定**
  検量線が作成されると、灰色のインジケータライトが緑色になり、サンプルの測定を開始できます。最小限の条件である 2-ポイントの検量線の作成によって、測定は可能となります。サンプル濃度は未知のサンプルに隣接する 2 つの Standard 間での線形内挿 (linear interpolation)、または多項式フィッティング (polynomial fitting) を使用して、算出されます。注意: 未知サンプルの濃度は検量線の範囲を超えて測定することはできません。

試薬/サンプル比 15:1 のアッセイでは 500-2000 ug/mL の範囲をカバーします。

Pierce 660 nm 測定モードの終了

全ての未知濃度サンプルの測定を終えるまでは、絶対に Pierce 660 nm 測定モードを終了しないでください。

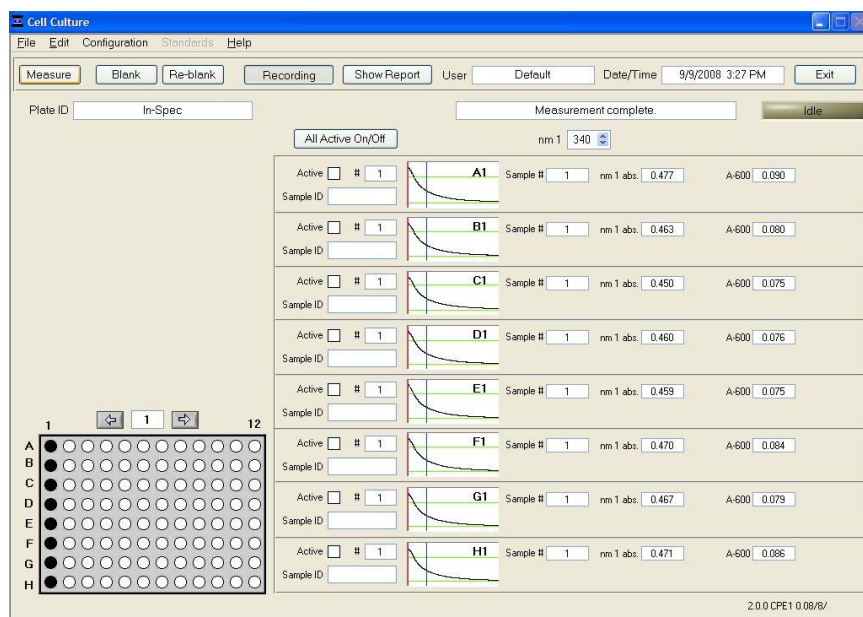
Cell Culture 測定モード

分光光度計を使った非吸収性浮遊細胞の測定は、濁度計などの代わりに頻繁に使用される方法です。分光光度計を扱うメーカーによって測定法が異なります。

注意: NanoDrop 8000 分光光度計のセルカルチャーモードでの吸光値とキュベットを使用するシステムでの同様の吸光値の大きな相違は、光路長の短さ (1 mm と 1 cm) となります。使用する分光光度計の光学系と懸濁液中の細胞型の両方に検出が左右される場合、吸光値の相違は正確に 10 倍とならない場合があります。

'Cell Cultures' 測定モードでは、サンプルスペクトルが 250 nm ～ 700 nm まで表示されます。一般的な 600 nm 固定波長での吸光度に加え、任意の波長での吸光度を表示することができます。

Configuration ドロップダウンリストより Measurement Limit を選択することで、ユーザー任意の波長 (カーソルポジション) について、濃度の上限値と下限値を設定することができます。Measurement Limit はデフォルトとして設定できないので、測定モードを開くたびに設定する必要があります。設定した範囲から外れた測定は、Sample Position Illuminator 上の点滅ライトで示されます。Plate Summary の表示上でも、同様のサンプル濃度は赤くマークされます。Plate Summary をレビューし、繰り返し測定するサンプルにマークし、ウィンドウを閉じると、Sample Position Illuminator は点滅を停止します。

結果表示画面

- **600nm Absorbance:** ベースラインの吸光度を引いた、λ1 カーソルでの吸光度です。注意: 実際の 1 mm 吸光度が表示されます。
- **nm 1:** ユーザーの設定した波長カーソルと対応する吸光度です。上下矢印の使用、もしくは希望する波長のタイピングにより、設定できます。
- **Show Report:** 200 サンプルで設定されていますが、バッファサイズは変更可能です。

サンプルの必要量

核酸サンプルを測定する際、確実にサンプル液柱を形成するには、1 uL のサンプルで十分であることが分かっています。ただし、ピペッターの精度やサンプルの特性によって、1.5～2 uL のサンプルが必要となる場合もあります。

複数のサンプルをサンプル台に滴下する際は、ピペッティングの遅れによる蒸発を最小限に抑えるためにも、8 チャンネルピペッターを使用してください。分光光度計にサンプルをピペッティングした後は、速やかに測定を開始してください。測定の遅れは、精度に影響を与える場合があります。

細胞懸濁液濃度

1 mm 光路長であるため、NanoDrop 8000 ではキュベットを使用した (10 mm) 分光光度計の 10 倍濃度の吸光度を測定できます。スペクトル全体が表示されるため、600 nm 以外での吸光度を確認することができます。

サンプルの均一性

吸光度を測定する場合、細胞が均一に浮遊していることを確認し、細胞の沈殿を避けるためにも速やかに測定を実行してください。

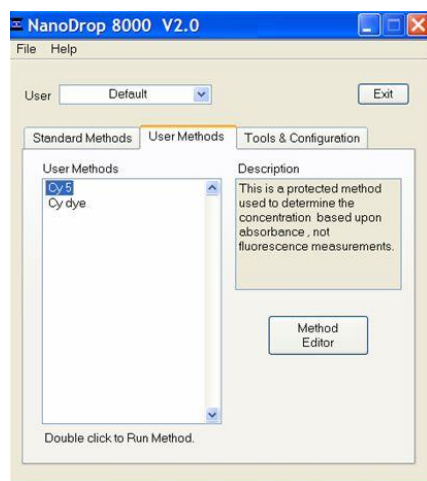
測定面の汚染除去

汚染除去の必要な場合は、次亜塩素酸ナトリウムの 0.5 % 溶液 (市販の漂白剤を 1:10 希釈 – 使用の都度用意) 等の消毒液を使用し、上下測定面の生理活性物質を除去してください。測定面のオプティカル部分の金属は SUS303 ステンレス鋼を使用し、一般的なラボの薬品に対して耐性があります (付録「溶媒耐腐食性」を参照)。最後の測定が完了したら、脱イオン水を含ませたラボペーパーで拭いた後、乾いたラボペーパーで良く拭いて下さい。注意: 希釈剤または漂白剤を滴下する際は、噴霧ボトルを使用しないでください。エタノールもしくはイソプロパノールの日常的なクリーニングへの使用は原則避けてください。

6. User Methods

User Methods はカスタマイズした吸光度分析メソッドで、ユーザー自ら、日常的に使用する独自の測定用パラメーターを作成、保存、および編集することができます。検量線を必要としないメソッドであれば、Single Sample、8 Sample のいずれのモードでも、すべてのユーザーメソッドにアクセスすることができます。

左側のボックスには現在設定可能なユーザーメソッドが表示されています。特定のメソッドをハイライトすると、右側の Description ボックスにメソッドに付いて説明したテキストが表示されます。

NanoDrop 8000 V2.0
File Help
User Default Exit
Standard Methods | User Methods | Tools & Configuration
User Methods
Cy 5
Cy dye
Description
This is a protected method used to determine the concentration based upon absorbance , not fluorescence measurements.
Method Editor
Double click to Run Method.

Method Editor

Method Editor はメソッドの作成、削除、編集、確認、および保存に使用します。
右下のボタンを使用して以下の画面にアクセスしてください。

Method Editor

Sort by: Method Name

Method List

	Method	Quant Mode	Analysis nm	Min. nm	Max. nm	Baseline	Units	Std. Curve	Ext. Coeff.	Factor	Mol. Weight
◆	Caffeine	Standards	272	220	350	350	mg/l	Linear			
◆	LDH-cell count	Standards	490	230	750	750	cells/ul	Linear			

Note - protected methods are indicated with a diamond and can only be modified by their creator.

Create Method | Delete Selected | Edit Selected | View Selected | Save | Exit

注意: 菱形で示されたメソッドは、プログラム済みメソッドです。編集することはできません。

新規メソッドの作成

ウィザード型の新規ウィンドウが表示され、新規メソッドの作成について案内します。最初のウィンドウは、Measurement Type というタイトルで、サンプル濃度を算出する方法を選択します。ベールの法則 (通常版、もしくは吸光係数の代わりに “定数” を使用する修正版) の使用、もしくは濃度算出の方法としての検量線の使用

(Standard Required) から選択することができます。"Oligo Required" オプションでは、入力したオリゴ配列に対する吸光係数を濃度の算出に使用することとなります。

5 つめのオプションは "none" です。本オプションでは濃度の算出をせずに、選択した波長での吸光度を検出するメソッドを作成することができます。

次のドロップダウンオプションとパラメーターボックスは選択した Quantification Mode に従って、適切に表示されます。注意: 検量線を必要とするメソッドは Single Sample モードでは使用できません。以下のスクリーンショットには、例として、Alexa 488 dye メソッドを使用したカスタムメソッドを設定する手順を示しています。

Edit method parameters

Step 1 of 5 - Measurement Type

Quantification Mode c = A / (b x Ext. Coeff.)

Chromophore Alexa Fluor 488

Extinction coeff. (l/mol*cm) 7.100E+4

Analysis Wavelength (nm) 495

Units mM

*Mol. Weight (g/mol) 0.000E+0

The concentration is calculated by dividing the absorbance (A) at the Analysis wavelength by (Extinction Coefficient times the path length). Both the Analysis nm and the Extinction Coefficient are required parameters. The concentration will be returned in the selected Units. *For weight-based units a Molecular Weight is required.

Next Cancel

Next ボタンを選択すると、Wavelengths スクリーンが表示されます。

Edit method parameters

Step 2 of 5 - Wavelengths

The absorbance at all wavelengths between the Plot MIn. Wavelength and Plot Max. Wavelengths are automatically archived for each measurement.
Use the Report Wavelengths list to define wavelengths of particular interest for tabular absorbance display during acquisition and automatic inclusion in reports. The Wavelengths list is pre-populated with the Analysis and Baseline Correction Wavelengths. Click on "Edit Wavelengths" to change wavelengths or define additional wavelengths.

Minimum Wavelength (nm) 220 Maximum Wavelength (nm) 750

Report Wavelengths 495 400 750

Edit Report Wavelengths

Back Next Cancel

本スクリーンを使用して、画面に表示する波長範囲および検出波長を選択します。Report Wavelengths として 4 つまでの波長が表示されます。

3 つめのウィンドウでは Baseline Correction Type を設定します。

Edit method parameters

Step 3 of 5 - Baseline

Baseline Correction Type Slope

Baseline Correction Wavelength 1 (nm) 400

Baseline Correction Wavelength 2 (nm) 750

A linear baseline correction from Baseline Correction Wavelegth 1 to Baseline Correction Wavelength 2 is substracted from the raw absorbance spectrum.

Back Next Cancel

ステップ 4 では画面表示および保存データ中で使用するユーザー任意の公式を最大 2 つまで設定することができます。公式はサンプル濃度の算出には使用されません。

Edit method parameters

Step 4 of 5 - Formula

You may have up to 2 user defined formulas calculated for this method. Select one of the previously defined formulas from "Available Formulas" or first select "Edit List..." to define a new formula.

Available Formulas

260/280
260/230
495/280

Formulas used with this Method (2 maximum)

Name	Formula
495/280	A(495)/A(260)

Edit Formulas

Back Next Cancel

ウィザードの最後のページでは、新規メソッドに名前を付け、説明文を入力します。

Edit method parameters

Step 5 of 5 - Name

Method name Alexa 488

Protected?

Description (optional) fluorescent dye

Back Finished Cancel

注意: 保護されているメソッドは、そのメソッドの作成時に使用したユーザーアカウントでログインしている場合にのみ、編集することができます。メソッドの不慮の編集を避けるために、メソッドの作成には Default ユーザーアカウントでなく、パスワードで保護されたユーザーアカウントの使用をお奨めします。

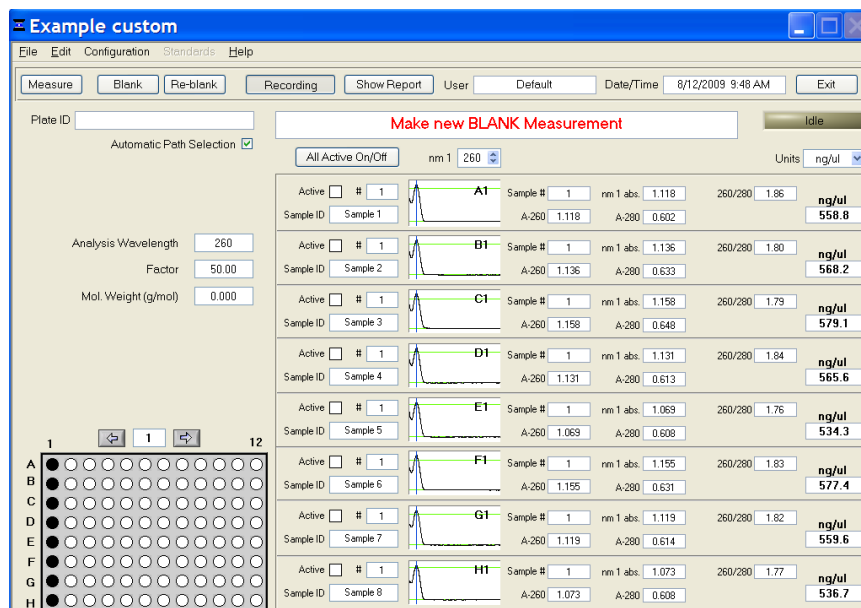
メソッドの編集

黒い菱形の付いたプログラム済メソッドは保護されているので、編集することができません。黒い菱形の付いたユーザー設定のメソッドは、メソッドを作成したユーザーアカウントのみが編集することができます。その他のメソッドはすべて、メソッド名をハイライトし、Edit Selected ボタンをクリックすれば、いつでも編集することができます。

上部のタブを使用して、適切なウィンドウに移動し、対象のパラメーターのみを編集することができます。Edit ドロップダウンボックスを使用することで、検出結果画面からメソッドを編集することもできます。注意: 編集したメソッドを使用できるようにするには、編集の終了後に保存する必要があります。

メソッドの確認

View Selected ボタンから、メソッドのパラメーターを確認することができます。しかし、変更を保存することはできません。

ユーザーメソッドの結果表示画面

Single Sample モードもしくは 8 Sample モードのいずれかで操作すると、分析波長および関連する要素が結果表示画面に表示されます。Single Sample モードでは、それぞれ追加した公式の結果が結果表示画面に表示されますが、8 Sample モードでは表示されません。追加した公式の結果は、いずれのモードでも、データレポートおよび保存データで確認することができます。

Automatic Path Selection: 選択すると、所定の分析波長での吸光度が 1.25 の閾値に達すると、ソフトウェアが自動的に 1.0 mm 光路長から 0.2 mm 光路長への切り替えを行います。

7. Tools & Configuratiion

保存データ

あらゆる測定モードのサンプルデータは自動的にアーカイブファイルに保存され、Data Viewer ソフトウェアもしくは MS Excel 等の表計算ソフトで開くことができます。

アーカイブファイルの作成

測定モードの開始時は必ず、ログインしている各ユーザー用に所定の測定モードについてのアーカイブファイルが作成されます。各ユーザーによって実行された測定は、対象のアーカイブファイルに保存されます。各ファイルの名前は、使用する測定モード名と測定日によって構成されます。例えば、“Nucleic Acid 2007　03　21.nd8” と名付けられたアーカイブファイルは、2007 年 3 月 21 日に開始された核酸測定 (Nucleic Acid モード) のデータとなります。各ファイルには、Data Viewer での自動起動を可能とする特有の拡張子 “.nd8” が与えられています (詳細については本セクション中の Data Viewer に関する記述参照)。

編集または/およびリフォーマットしたデータに、ユーザー任意の名前を付けて保存することも可能です。分析の必要な波長データに関しては、スペクトルを作図し直すことも可能です。

アーカイブファイル中の吸光度データは、スクリーン上での表示と同様に表示されます。核酸、Protein A280、および Protein & Labels 測定モードでは 1.0 cm (10.0 mm) 光路長ベースで保存されます。MicroArray、UV-Vis、Protein BCA、Bradford、Lowry、および Cell Culture 測定モードでは、データは 1.0 mm (0.1 cm) 光路長でノーマライズされます。

すべての測定モードのデータには、’Measurement Type’ と名付けられた行が含まれています。各測定の Mesurement Type 行には ‘Measure’、‘Blank’ または ‘Reblank’ と記入されています。’Measure’ と記入されている場合は、対応する列は保存されている Blank 値を使用した通常の測定データとなります。’Blank’ と記入されている場合は、初回の Blank データであることを示しています。’Reblank’ と記入されている場合は、既存の測定結果を新しい Blank で再分析したデータとなります。

Microsoft Excel - Nucleic Acid 2005　11　01　v3.2.ndj [Read-Only]

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
1	Module:	Nucleic Acid												
2	Path:	10 mm												
3	Software:	3.2.0												
4	Firmware:	USB2000 2.41.3 ND3												
5	Sample ID	User ID	Date	Time	ng/ul	A260	A280	260/280	260/230	Constant	Cursor Pos	Cursor abs	340 raw	Measurem
6		Default	11/1/2005	8:38 AM	0	0	0	NaN	NaN	50	230	0	0	Blank
7		Default	11/1/2005	8:39 AM	3.51	0.07	0.03	2.42	2.12	50	230	0.033	0	Measure
8		Default	11/1/2005	8:39 AM	43.76	0.88	0.52	1.67	2.43	50	230	0.36	0.008	Measure
9		Default	11/1/2005	8:40 AM	393.73	7.87	4.27	1.85	2.35	50	230	3.353	0.008	Measure
10		Default	11/1/2005	8:41 AM	3704.14	74.08	39.84	1.86	2.24	50	230	33.075	-0.038	Measure

データの保存階層

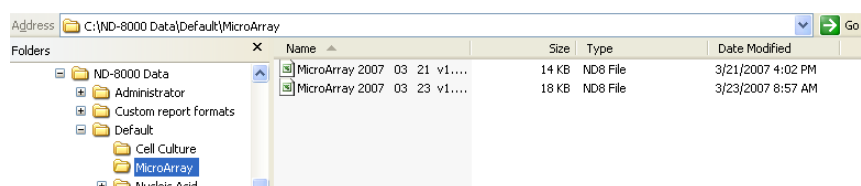
アーカイブファイルの階層は以下の通りとなります。

C:\ND-8000 Data → User name → 各測定モード (BCA Protein、Lowry、Bradford、Cell Culture、MicroArray、Nucleic Acid、Protein A-280、Proteins & Labels、UV-Vis).

下図に示されているように、全てのアーカイブデータファイルは各ユーザーフォルダ内の測定モードフォルダに保存されます。

Address C:\ND-8000 Data\Default\MicroArray

Folders: ND-8000 Data / Administrator / Custom report formats / Default / Cell Culture / MicroArray / Nucleic Acid

Name	Size	Type	Date Modified
MicroArray 2007　03　21　v1....	14 KB	ND8 File	3/21/2007 4:02 PM
MicroArray 2007　03　23　v1....	18 KB	ND8 File	3/23/2007 8:57 AM

ファイルのエクスポート先
もともとの保存先に加えて、ユーザーは追加ロケーションにデータをエクスポートすることができます。本オプションは Tools & Configuratiion タブの User Preference 内の Data Exporting タブで選択できます。”On” ボックスをクリックして、Automatic Data Export 機能を有効にしてください。Data Export Folder ダイアログウィンドウの横のアイコンを使用して、データのエクスポート先を選択します。’Save and Exit’ ボタンをクリックし、選択したパスを保存してから User Pereference ウィンドウを終了します。

測定終了後全てのデータは速やかにアーカイブファイルへと記録されます。ソフトウェアもしくは PC の偶発的なシャットダウンは、アーカイブファイルに何ら影響を与えません。

Data Viewer

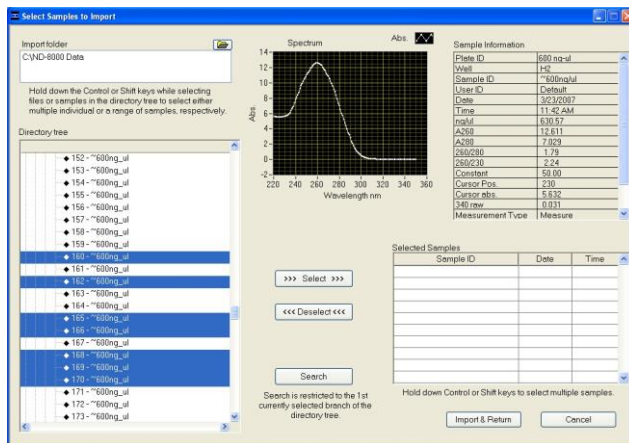
Data Viewer はオペレーティングソフトウェアに組み込まれた、総合データレポーティングソフトウェアです。本プログラムによりレポート構成のカスタマイズ、保存データのインポート、および事前に作成したデータのリプロットが可能となります。DataViewer を使用すると、データを効率的にレビューできます。測定中、各測定モードの Show Report ファンクションより本機能にアクセスすることができます。また、メインメニューからもアクセス可能です。PC に NanoDrop 8000 分光光度計を接続しなくても、Data Viewer モードを使用することができます。

Data Viewer の機能
Data Viewer は Plots、Reports、および Standard Curves（使用している場合）の 2 もしくは 3 つのタブラー形式のページで構成されています。タブをクリックすることで、任意のページにアクセスすることができます。

メインメニューもしくは Show Report からアクセスすると、Report ページが立ち上がります。注意: Show Report から Data Viewer にアクセスする場合は、Start Report ではなく Recording に設定しておいてください。

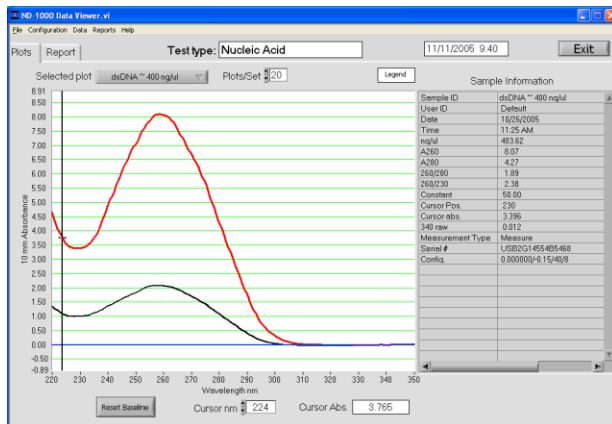
3 つのページに共通の**ツールバー機能:**

- **File:** スペクトル、レポート、および検量線の印刷する際のページ構成を決定します。ドロップダウンメニューから現行の画面を jpg. 形式で保存することもできます。
- **Configuration:** 本機能に含まれるオプションは ‘Auto Scale’、’Include graph in printout’、および ‘Include standards in printout’ です。
- **Data:** 本機能に含まれるオプションは、データのインポート、サンプル名の変更、およびサンプルデータの削除です。注意: すべてのサンプルを削除した後、異なる測定モードのデータをインポートする場合は、一度 Data Viewer を終了してから、再開してください。
- **Reports:** 本ツールバーファンクションはレポートに含まれる対象のカラムを選択します。詳細については Report ページセクションをご覧ください。
- **Print Window:** ‘Print Window’ もしくは ‘CTL +P’ で、現行の Plot、Report、もしくは Standard スクリーンをプリントアウトすることができます。
- **Save Window:** ファイルを .JPG で保存します。.

Import ページ
表示するサンプルを選択するために、Data Viewer ソフトウェアの Plots もしくは Report ページの Data メニューバーのドロップダウンメニューから ‘Import Samples’ を選択します。Import Folder ボックスと Directory Tree を含む下記と同様の画面が表示されます。

機能:

- **Import folder:** インポートするデータを含むフォルダを選択します。フォルダの選択はユーザーレベルもしくはより高い階層で行います。ボックス内の各ユーザーフォルダに含まれる測定モードもしくはメソッドフォルダの選択は必要ありません。
- **Directory tree:** インポートするデータを選択します。各ファイル名の左側の四角形をクリックすると、詳細が示されます。ファイル内の各サンプル、もしくはファイル全体を選択してください。インポートの選択は、すべて同じ測定モードもしくはメソッドで統一してください。
- **Select もしくは Deselect:** Selected Samples に、もしくは Selected Samples から、ハイライトされたサンプルを移動させます。注意: ソフトウェアのデフォルトバッファ量は 1000 サンプルです。
- **Search:** 本ファンクションにより、Sample ID から、特定のデータの位置を検索することができます。
- **Sample Information とスペクトル:** ハイライトされているサンプルに関するデータと共に移植されます。
- **Import and Return:** 選択したサンプルデータを Plots もしくは Report 画面に移植します。注意: シフトまたはコントロールキーを使用して、複数のサンプルを選択し、インポートすることが可能です (上図参照)。

Plots ページ

Plots ページでは選択したサンプルのスペクトルが表示されます。

機能:

- **Test Type:** 自動的に測定モード名が入力されます。
- **Date:** レポートの作成日時が自動的に入力されます。
- **Selected Plot:** 個別のサンプルデータを選択、もしくはハイライトするには 2 通りの方法があります。対象のプロットへカーソルを合わせてクリックする、もしくは 'Selected Plot' ドロップダウンボックス (Legend も表示されます。) を使用することで、選択できます。選択したサンプルは太いプロット線で表示されます。
- **Plots/Sets:** 1 ページに付き 20 プロットまで表示することができます。レポートは多数のサンプルデータを保持できますが、グラフページでは 20 プロットまでに限定されるので、残りのサンプルスペクトルは新しいページに表示されます。各ページは 1 セットとして扱われます。
- **Legend:** Legend ボックスにカーソルを合わせると、プロット色に対応したサンプル名が表示されます。Legend からサンプルを選択もしくはハイライトすることはできません。
- **Sample information:** 選択したサンプルのデータと共に自動的に移植されます。表示データは選択したデータのタイプに対応します。注意: Sample Information はサンプル測定時に取得したデータに基づき、Data Viewer のリアルタイムディスプレイでのカーソルポジションの変更によって調整されるものではありません。
- **移動式 X および Y 軸:** すべてのデータタイプで使用できます。X、Y 軸のいずれかでカーソルが表示されなくなる場合、数値を入力すると、各軸を製図し直します。ページの下段に表示される Cursor Abs の数値は移動式カーソルの位置により決定されます。移動式の X 軸は Y ポジションのピークを算出するベースラインを決定します。'Reset Baseline' は X 軸を 0 に再配置します。

Report ページ

Report ページでは選択したサンプルのデータが表形式で表示されます。各測定モードの行構成の編集、およびカスタマイズしたフォーマットの保存が可能です。

Plate ID	Well	Sample ID	User ID	Date	Time	ng/ul	A260	A280	260/280	260/230	Constant	Cursor Pos.
600 ng-ul	H2	~600ng/ul	Default	3/23/2007	11:42 AM	630.57	12.611	7.029	1.79	2.24	50.00	230
600 ng-ul	A3	~600ng/ul	Default	3/23/2007	11:43 AM	607.96	12.159	6.623	1.84	2.24	50.00	230
600 ng-ul	B3	~600ng/ul	Default	3/23/2007	11:43 AM	595.13	11.903	6.534	1.82	2.25	50.00	230
600 ng-ul	F2	~600ng/ul	Default	3/23/2007	11:42 AM	601.92	12.038	6.709	1.79	2.24	50.00	230
600 ng-ul	E2	~600ng/ul	Default	3/23/2007	11:42 AM	603.78	12.076	6.713	1.80	2.25	50.00	230
600 ng-ul	H1	~600ng/ul	Default	3/23/2007	11:41 AM	610.59	12.212	6.798	1.80	2.23	50.00	230
600 ng-ul	B2	~600ng/ul	Default	3/23/2007	11:42 AM	592.05	11.841	6.395	1.85	2.32	50.00	230

Start Report / Recording

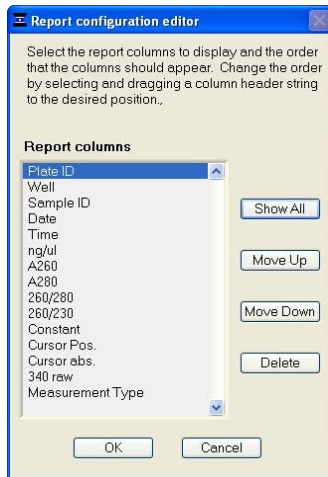
全てのデータは自動的に保存されます。Start Report/Recording 機能によって、データを測定すると、結果は Report Table に記録されます。デフォルトの設定では Recording 機能はオンとなっています。’Start Report’ が表示されている場合は、測定データはほぞんされますが、Show Report で表示することはできません。

Show Report

本ボタンを選択すると、Data Viewer の Report ページが表示されます。右上の Exit ボタンを押すと、測定結果の獲得画面に戻ります。Report ページの終了後も、データは Report に入力され続けます。

全てのデータは c:\ND-8000 Data のアーカイブファイルに保存される、もしくは別のロケーションにエクスポートされます。保存したレポートを開く場合は、c:\ND-8000 Data\Reports フォルダにアクセスし、対象のファイル上で右クリックします。

Report ページで使用可能なキーオプションの一部は、Report ツールバーのドロップダウンメニューよりアクセスすることができます。

Configure Report オプションを選択すると、以下のボックスが表示されます。

‘**OK**’ を選択すると、対象の行のみを表示した Report ページに戻ります。

その他の機能:

- **Sort:** カラムによってデータを並び替えます (例: サンプル名順もしくは日付順にデータを並び替え)。昇順、降順のいずれも可能です。
- **Save Report Format:** 現行のレポートフォーマットを .nr8 ファイルとして保存します。保存したデータフォーマットをデフォルトとして使用するには、メインメニューに戻り、‘Users Preferences’ を選んで、’Reports’ をクリックしてください。“Select Default Report Format’ を使用して、アーカイブファイルのリストから特定のメソッドタイプに使用するフォーマットを指定してください。
- **Load Report Format:** データのインポート前もしくは後に、保存したレポートフォーマットをロードします。
- **Print report:** デフォルトでは、Report ページのみを印刷します。ツールバーの Configuration ドロップダウンメニューからオプションを選ぶことで、Standard もしくは Plots ページの印刷の有無を選択することができます。
- **Save Report および Load Report:** 下記のウィンドウに示されるように数種類のオプションがあります。

Save Report As....

Choose how to save the report:

Full Report	Choose this option to be able to reload the report into the Data Viewer at a later date.
Export Report Table Only	Choose this option to export a tab deliminited text file of the displayed Report Table suitable for import into Excel.
Export Report & Standards Tables	Choose this option to export a tab deliminited text file of the displayed Report & Standards Tables suitable for import into Excel.
Cancel	

Full Report オプションを使用すると、Data Viewer は最新の日付のレポートをリロードします。保存したレポートの読み取りにはプルダウンメニューの Load Report を使用します。Load Report 機能を使用すると、レポートはデフォルトの行構成で表示されます。注意: メインメニューの User Preferences モードにアクセスすると、デフォルトコンフィギュレーションを修正・保存することができます。レポートは .nr8 フォーマットで保存されます。
注意: 各プログラム済みメソッドについては、特定のデフォルトレポートコンフィギュレーションを選択することができます。ユーザーの設定したメソッドについては、全てのメソッドについてまとめて 1 つのデフォルトコンフィギュレーションしか指定できません。カスタムメソッドの使用時は、"Load Report Format" ドロップダウンを使用して、適切な保存コンフィギュレーションを有効にしてください。

残りの 2 つのオプションは、Excel タイプの表計算ソフトウェアで表示するレポートに使用します。表計算形式のレポートを開くには、C:\ND-8000 Data\Reports フォルダにアクセスし、対象のファイル上で右クリックしてください。

Report ページの追加機能:

- **Method:** データの測定モードは自動的に移植されます。
- **Date and Time:** レポートの作成日時が自動的に移植されます。
- **Report Name:** ユーザーの決定したレポートの名前です。
- **Report Full mode:** ドロップダウンリストから、レポート操作に関わるオプションを決定します。Report Full Mode ドロップダウンリストから、'Print'、'Save'、もしくは 'Print and Save' から選択することができます。ボックスをハイライトし、希望の数値を入力することで、1000 サンプル/レポート の初期設定を変更することもできます。ドロップダウンから 'Ignore' を選ぶと、レポートあたりのサンプル数を無制限にすることができます。
- **Max Report Size:** デフォルトでは 1000 に設定されています。

Standards ページ

Standards ページでは、各サンプルの測定時に使用された実際の検量線が表示されます。注意: 本ページの使用は、検量線を使用した測定モードに限定されます。

File Configuration Data Reports Help

Plots Report Standards Test type: Bradford 10/27/2005 1:17

Standards

Sample ID	Curve Type	Ref conc	Ref Abs	Std 1 conc	Std 1 Abs.	Std 2 conc	Std 2 Abs	Std 3 conc	Std 3 Abs	Std 4 conc
Reference	Interp	0.00	0.029	NaN	NaN	NaN	NaN	NaN	NaN	NaN
Standard 1	Interp	0.00	0.029	100.00	0.047	NaN	NaN	NaN	NaN	NaN
Standard 2	Interp	0.00	0.029	100.00	0.047	1000.00	0.099	NaN	NaN	NaN
Standard 3	Interp	0.00	0.029	100.00	0.047	1000.00	0.108	2000.00	0.073	NaN

表計算プログラムで保存データを開く

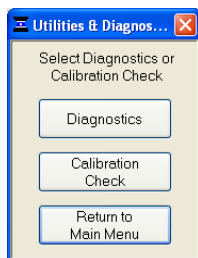
アーカイブファイルはタブ区切りフォーマットなので、Microsoft Excel や同様の表計算プログラムで開くことができます。表計算形式のレポートを開くには、C:\ND-8000 Data\Reports フォルダにアクセスし、対象のファイル上で右クリックしてください。

注意: Data Viewer 機能を使用して、もとの保存データを使用できるように、Excel 等の表計算プログラムでデータを開いた場合は、変更を加える前に名前を付け直して保存してください。

Diagnostics and Utilities

キャリブレーションチェック

Calibration Check はメインメニューの Utilities and Diagnostics モードからアクセスすることができ、光路長が校正した値の範囲内に収まっているか、確認するために使用します。

Utilities & Diagnos...
Select Diagnostics or Calibration Check
Diagnostics
Calibration Check
Return to Main Menu

Calibration Check を実行するには、標準液 CF-8 が必要となります。CF-8 は 8 連 PCR チューブと 2 本のアンプルに入った水性重クロム酸カリウム ($K_2Cr_2O_7$) 溶液で NanoDrop 8000 分光光度計のキャリブレーションに使用します。

Thermo Scientific NanoDrop 8000 Calibration Check 診断では 8 つのポジションについて 5 回の測定を行い、光路長のキャリブレーションを評価します。評価手順の実行には注意を払う必要があります。使用者のミスによって 1 つでも異常値が生じた場合、複数の測定台での Calibration Check の失敗につながります。

クリーニング

キャリブレーションチェックを行う前に以下のクリーニングを実行してください。

1. PR-1 の入ったバイアルを開け、キットに付属している塗布器を使用して、中身を極少量取り出します。

2. PR-1 を上下測定面に極薄く塗ります。そのまま 30 秒間放置して、乾かします。

3. ラボペーパーを 4 つ折りにし、黒い汚れが取り除かれ、ピペッティングした水が丸く盛り上がるようになるまで、上下測定面をこすって、PR-1 を取り除きます。

サンプルの滴下のヒント

- ピペットガイドを最適に使用できる向きで本体を設置します。

- 通気孔や換気扇の傍に NanoDrop 8000 を設置しないでください。

- 少容量（0.5-10 μL）マニュアル 8 チャンネルピペッターを使用して、dH2O ならびに CF-1 を滴下してください。
  Tip: 本手順での電動ピペッターの使用は推奨されていません。

- 最適な結果を得るためには、Fisher 0.1-10 μL low retention tip (cat #02-717-134) 等のより短く、よりしっかりとしたピペットチップをご使用ください。ピペッターの 8 つのポジションにチップをしっかりと取り付けてください。
- 一連の測定毎にピペットチップを必ず交換してください。
- 各測定台の中心に適切な量のサンプルをピペッティングしてください。

Dischage and Touch サンプル滴下メソッドの実行

- 1 回の動作で全ての測定台に CF-1 を滴下する必要があります。Calibration Check の実行前に水を使用して以下の手順を試行してみることをお勧めします。
- ピペットチップを測定台に近づけた際、液体を出して、チップの先に液滴がぶら下がるようにします。
- 液滴を測定台にそっと接触させたら、表面張力でチップから測定台に引き出します。
  Tip: サンプルの分注時にチップが曲がったり、折れたりしないように、しっかりとした構造のチップを使用してください。
  Tip: 8 つのポジション全てへの安定した分注が日常的かつ迅速にできるようになるまで、上記の技術を練習してください。

Calibration Check の 手順

1. 前述に従い、PR-1 を使用して測定台のクリーニングと状態の改善を行います。本ステップは Calibration Check を開始する前に必ず完了して置いてください。
2. Calibration Check モードを選択します。: Tools & Configuration タブ＞Utilities & Diagnostis＞Calibration Check
3. 付属の 8 連 PCR チューブに 55 uL の dH2O を分注します。この際に CF-1 は添加しません。
4. 8 チャンネルピペッターで各測定面に 1.5 uL の dH2O を同時に滴下します。アームを下げ、OK をクリックし、本体を初期化します。
5. ラボペーパーで上下測定面の水滴を拭き取り、チップを交換します。
   Tip: サンプルの分注時にチップが曲がったり、折れたりしないように、しっかりとした構造のチップを使用してください。
6. 8 チャンネルピペッターで各測定面に 1.5 uL の水を同時に滴下します。アームを下げ、Blank をクリックします。
7. 測定の終了後、ラボペーパーで上下測定面の水滴を拭き取り、チップを交換します。
8. “Target absorbance @350 nm 1 mm Pathlength” ポップアップボックスに CF-1 の Target Absorbance を入力してください。
   注意: Target Absorbance は CF-1 のアンプルにラベルされており、ロットによって異なります。
9. アンプルをよく振って、溶液を完全に混ぜ合わせます。アンプルの上部を軽く叩いて、液体をアンプルの底部分に集めます。

10. 自分の体と反対側に折り曲げて、十分に注意してアンプルの首部分を折り、CF-1 キャリブレーション液を開封します。55 uL ずつの液体を、もう一方の 8 連 PCR ストリップチューブの各ウェルに分注します。55 μL の分注には 200 μL 容量のピペッターを使用します。

11. マニュアル 8 チャンネルピペッターを使用して、1.5 uL の CF-1 を同時に吸い上げます。
    Tip: CF-1 溶液 (1.5 μL) をチップに吸い上げる際は、8 つのピペットチップの全てに同量の溶液が入っているか見て、速やかに視認します。1 つまたは複数のチップで CF-1 が入っていなかったり、他のチップより量が少なかったりした場合は、CF-1 とチップを廃棄します。新しい 8 個セットのチップを使用して、CF-1 (1.5 μL) を吸い上げます。

12. 上述の Discharge and Touch サンプル滴下メソッドを使用して 1.5 μL の CF-1 を測定台に同時にピペッティングします。
    Tip:各測定台に、同量の CF-1 の液滴ができているか、液滴は測定台の真ん中にあるか、速やかに視認します。1 つまたは複数の測定台でで CF-1 の量が少なかったり、液滴が真ん中になかったりした場合は、CF-1 を拭き取り、ピペットチップを交換して、新しく CF-1 (1.5 μL) を吸入します。
    Tip: 視認に数秒かかった場合は、CF-1 を拭き取り、ピペットチップを交換して、新しく CF-1 (1.5 μL) を吸入します。短時間でも (15-20 秒) 測定台に CF-1 を残したままにしておくと、CF-1 が濃縮して、結果として得られる値が想定より高い吸光値が検出されます。

13. アームを下げて、**Measure** ボタンをクリックします。

14. 測定サイクルの終了後、ラボペーパーで CF-1 を拭き取ります。ピペットチップを交換し、手順 11-12 を 5 セット繰り返します。

結果
5 回目の測定後、結果 が画面に表示されます。

Calibration Check に合格した場合、仕様範囲内で機器が機能していることを示すポップアップボックスが表示され、結果が .JPG イメージとし .TXT ファイルの両方の形式で *ND-8000 Data\Calib check* フォルダに保存されます。

Calibration Check の結果が不合格であったり、条件付での合格であったりした場合はデータを保存・確認し、個別の位置と傾向を結びつけて見ながら、各一連のデータポイントを確認します。Calibration Check の許容誤差は Help ドロップドロップダウンメニューより確認することができます。使用する実際の値は CF-1 のロット別 Target Absorbance により異なります。Calibration Check warning ボックスが表示された場合は、後述のトラブルシューティングを参照してください。

トラブルシューティング

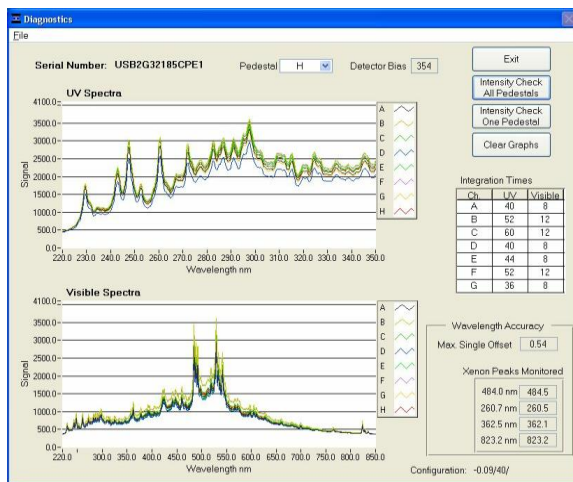
症状	原因	解決法
吸光度が高い	• CF-1 バイアルを 45 分間以上開け放していた。	• 新しい CF-1 を使用してください。
	• 液滴を交換せずに、複数回の測定を行った。	• 測定毎に新しい CF-1 の液滴を用意してください。
	• ピペットチップを交換せずに、複数回の測定を行った。	• 測定毎にピペットチップを交換してください。
	• サンプルの分注後 10 秒以上経過してから、Measure ボタンを押した。	• 10 秒以上経過した場合は、サンプルを拭き取り、測定前に新しい液滴をピペッティングしてください。 Tip:安定した分注が日常的かつ迅速にできるようになるまで、Discharge and Touch サンプル滴下を練習してください。
	• 排気孔もしくは換気扇の近くで、サンプルが蒸発してしまった。	• より適切な場所に本体を移動してください。
標準偏差が高い	• 分注した液滴が一定でない。	• チップガイドを最適に使用できるように本体を設置してください。 • 低容量、マニュアル 8 チャンネルピペッターとしっかりフィットするチップを使用してください。 Tip: 測定台へのアライメントが容易な短く、固いチップの使用をお勧めします。
	• CF-1 液滴の分注にシングルチャンネルピペッターを使用している。	• 必ず 8 チャンネルピペッターをご使用ください。
	• 測定台への分注量が十分でない。	• 必ずピペットチップの確認 (5 秒以内)を行い、同量の CF-1 が吸入および分注されていることを確認してください。
	• 液滴を交換せずに、複数回の測定を行った。	• 測定毎に新しい CF-1 の液滴を用意してください。
	• ピペットチップを交換せずに、複数回の測定を行った。	• 測定毎にピペットチップを交換してください。
吸光度が低い	• 不適切な Blank を測定した。	• 測定台を拭いて、新たに Blank を測定し、Reset ボタンを押してください。

ソフトウェアが再キャリブレーションの必要を示している場合は、販売店もしくは輸入元に連絡してください。

以前の Calibration Check の結果の再確認
以前の結果は、File ドロップダウンメニューの “Load Cal Check File” 機能から、いつでも確認することができます。

追加情報
クリーニング方法、キャリブレーションチェック手順、およびキャリブレーションチェックの許容誤差表は、メニューバーの Help ドロップダウンリストよりアクセスすることができます。

Intensity Check

Intensity Check はトラブルシューティングを目的として使用されます。以下の画像は一般的なスペクトルの例となります。詳細については、トラブルシューティングセクションをご覧ください。

Account Management

Account Management モードでは、特定のデータファイルの保存場所の指示や、個別ファイルへのデータの分離を各ユーザーに許可することができます。Account Management モードにアクセスできるのは、Administrator のみです。

User Access Manager

Actions

All Users

User ID	Full Name	Level	Active	Locked	Expired	Expires
Default	Default user	0	Active	Not Locked	Not Expired	Never
Administrator	Administrator	10	Active	Not Locked	Not Expired	Never

アカウントのタイプ

ユーザーアカウントには、以下の 3 種類があります。

Level 10- 最上位のセキュリティセッティングで、すべての level 10 ユーザーは新規ユーザーの追加、ユーザーの修正、ユーザーの削除、およびパスワードの設定を行うことができます。ソフトウェアインストール時、唯一の level 10 ユーザーは Administrator で、パスワードは “nanodrop” となっています。導入時のアカウント設定後、パスワードを変更してください。また、あらゆるユーザーを level 10 に設定することができますが、推奨しません (下記の level 5 をご覧ください。)。注意: Administrator (level 10 アカウント) は消去できません。

Level 5- 一般ユーザー向けのアカウントレベルです。本アクセス権を有するアカウントはパスワードで保護され、特定の User Preference を選択することができます。また、生成されたすべてのデータは自動的に c:\nd-8000 Data の各ユーザーアカウント (User Preference で選択されている場合は、追加でユーザー任意のロケーションにも) に保存されます。

Default (level 0 セキュリティ) – 本アクセスレベルはデフォルトアカウントの為だけに設定されています。本アカウントはアカウントを持たないあらゆるユーザーが、ソフトウェアのすべてのアプリケーションモードにアクセスすることを可能とします。パスワードで保護されていませんが、生成したすべてのデータは自動的に c:\ND-8000

Data フォルダの Default フォルダに保存されます。注意: 各ユーザーが固有のユーザーアカウントを有する場合、Administrator は Default ユーザーを削除することができます。

アカウントのログイン/ログアウトおよびタイムアウト
ユーザーアカウントは以下のいずれかの動作が行われるまで、有効となります。

- メインメニューのプルダウンボックスで Default もしくは他のユーザーネームを選択し、ログアウトする。
- ソフトウェアを終了する。

また、ユーザーアカウントはソフトウェアの “System Idle Timeout” の制限時間を超えると、自動的にログオフされます。ソフトウェアを 4 時間使用せずに放置すると、自動的に Default ユーザーに戻ります。制限時間が近づくと、警告と 30 秒のカウントダウンが表示されます。ユーザーが ‘**Cancel**’ を選択した場合、再びユーザーアカウントとアプリケーションが 4 時間有効になります。制限時間を超えると、開いていたアプリケーションが終了され、メインメニューおよび Default ユーザーに戻ります。

アカウントのロックアウト
ユーザー固有のアカウントは以下の場合にロックアウトされる可能性があります。

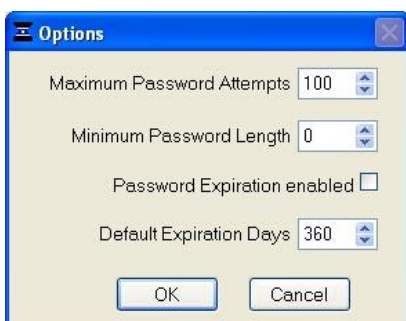
- 割り当てられた日数内にパスワードを変更しなかった。
- 連続して 99 回間違ったパスワードを入力した。
- Administrator が特定のアカウントをロックした。

Administrator (level 10) に限り、Acoount Management モードの ‘Modify User (ユーザーの変更)’ 入力を使って、アカウントのロックを解除できます。注意: すべてのアカウントは (たとえ Administrator であっても)、上記のパスワード誤入力を行うと、ロックされる可能性があります。

Change Password

固有のアカウントを持つユーザーは各自のパスワードの変更が可能です。

注意: Administrator は、’Account Management’ の ‘Options’ もしくは ‘Modify User’ から、パスワードに期限を設定することができます。パスワードの期限を設定する場合は、”Password Expiration enabled” ボックスにチェックを入れ、”Default Expiration Days” に日数を入力します。

Options
Maximum Password Attempts 100
Minimum Password Length 0
Password Expiration enabled
Default Expiration Days 360
OK Cancel

Passwords.log ファイル
c:\ND-8000 Data\log files フォルダ内の Passwords.log ファイルには、全てのアカウントユーザー ID とパスワードが保存されています。Administrator は、新規ユーザーアカウントの追加時もしくはパスワードの変更時には必ず、Passwords.log ファイルのコピーを作成し、同じフォルダに保存してください。Administrator のアカウント

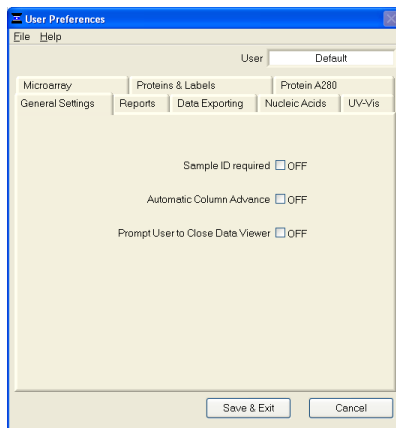
がロック状態になったら、passwords.log の最新コピーをリネームして、Password.log ファイルとして使用することができます。

User Preferences (初期設定画面)

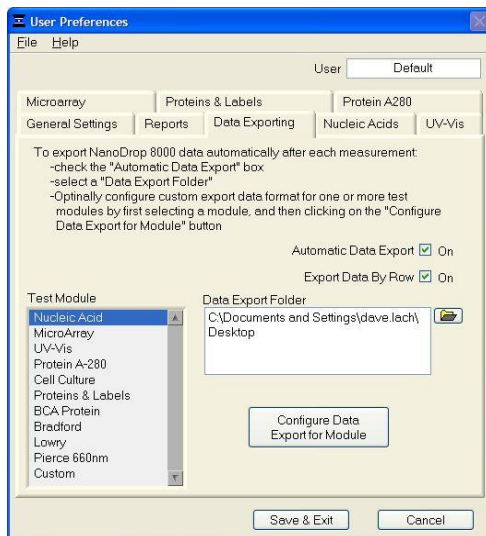
ユーザーは、各アプリケーション (測定モード) において使用する設定を事前に選択しておくことができます。

主な機能

General Settings タブでは下記のオプションについて、デフォルト設定として選択もしくは解除を行うことができます。

- 測定を実行する前に Sample ID を必要とするか。
- 次のサンプルセットへの自動的な移行を行うか (96 ウェルビジュアルで次の列へ移動する等)。
- 各測定モードを終了する際の Data Viewer の同時終了に関するユーザー確認を必要とするか。

Data Exporting

デフォルトでデータを保存する c:\ND-8000 Data のアーカイブファイルに加え、各データをユーザー任意の位置に保存することができます。本オプションは 'Data Exporting' タブで選択することができます。'Automatic Data Export' ボックスを選択し、'Data Export Folder' 下のファイルフォルダアイコンをクリックして、ファイルパスを選択してください。.nd8 ファイルの右クリックにより、アーカイブファイルを Excel 形式で開くこともできます。注意: Excel でファイルに変更を加える場合は、変更を加える前に "名前を付けて保存" で新規ファイル名での保存を行ってください。

Export Data by Row オプションは 8 Sample モードのみで適用可能です。選択すると、レポート内のデータがプレートの列順 (A1 から H1、A2 から H2 の並び順) ではなく、行順 (A1 から A12、B1 から B12…の並び順) で記載されます。

Configure Data Export for Module ボタンを選択すると、下記のポップアップボックスが表示されます。

表示のボックスはエクスポートする対象のデータカラムを選択する際に使用します。User Preference モードを終了する前に、Save & Exit ボタンをクリックして、指定したパスを選択してください。

注意: 各プログラム済みメソッドについては、特定のデフォルトレポートコンフィギュレーションを選択することができます。ユーザーの設定したメソッドについては、全てのメソッドについてまとめて 1 つのデフォルトコンフィギュレーションしか指定できません (7-17 図参照)。カスタムメソッドの使用時は、”Load Report Format” ドロップダウンを使用して、適切な保存コンフィギュレーションを有効にしてください。

User Preferences

File Help

User Default

Microarray | Proteins & Labels | Protein A280
General Settings | Reports | Data Exporting | Nucleic Acids | UV-Vis

Auto Reporting

Nucleic Acids ☑ Protein A280 ☑
UV-Vis ☑ Protein BCA ☑
Microarray ☑ Protein Bradford ☑
Proteins & Labels ☑ Protein Lowry ☑
Cell Cultures ☑ Protein Pierce 660 nm ☑

Select Custom Report Format

Single Sample ○
8 Sample ◉

Default Reports

Module	Custom Report
Nucleic Acid	Standard Nucleic Acid report format.nf8
MicroArray	Standard MicroArray report format.nf8
UV-Vis	Standard UV-Vis report format.nf8
Protein A-280	Standard Protein A-280 report format.nf8
Cell Culture	Standard Cell Culture report format.nf8
Proteins & Labels	Standard Proteins & Labels report format.nf8
BCA Protein	Standard BCA Protein report format.nf8
Bradford	Standard Bradford report format.nf8
Lowry	Standard Lowry report format.nf8
Pierce 660nm	Standard Pierce 660nm report format.nf8
Custom	formulas.nf8

Save & Exit Cancel

Auto Reporting

ユーザーはあらゆる測定モードに対して、'Auto Reporting' オプションを選択することができます。Auto Reporting オプションによって、すべてのサンプルについてのデータがレポートに自動保存されます。Reports タブの Auto Reporting の下に並んだ各アプリケーションの隣のボックスを選択することで、本オプションを選択することができます。User Preference モードを終了する前に、Save & Exit ボタンをクリックして、Auto Reporting ファンクションを選択してください。

注意: User Preference は '.log' ファイルに保存されます。最新のソフトウェアへのアップグレードを行う際には、.log ファイルを保護しなくてはなりません。ソフトウェアのアップグレード後、User Preference が正常に機能しない場合は、.log ファイルを適切なディレクトリにコピーします。ファイルには全てのアカウントに関するユーザー ID とパスワードが含まれ、オペレーティングソフトウェアでのみ読み込みが可能です。ファイルは c:\ND-8000 Data\log files フォルダにあります。Administrator は、新規ユーザーアカウントの追加時もしくはパスワードの変更時には必ず、Passwords.log ファイルのコピーを作成し、同じフォルダに保存してください。Administrator のアカウントがロック状態になったら、passwords.log の最新コピーをリネームして、Password.log ファイルとして使用することができます。

Dye/Chromophore Editor

Dye/Chromophore Editor によって、初期設定済みの蛍光 dye に加え、MicroArray、Proteins and Labels モードで使用可能な、ユーザー独自の dye もしくは chromophore を設定することができます。初期設定済みの dye メソッドは菱形で示され、編集することはできません。

260 nm および 280 nm での各 dye からの Absorbance contribution は、リストに新規の dye を加える際、対応する % フィールドに調整値 (decimal correction) を入力することにより、調整されます。ユーザー入力した dye に関する適切な調整値については、dye メーカーにお問い合わせください。

Dye/Chromophore List Editor

Dye/Chromophore List

Name	1/M-cm	nm	g/Mol.	260 nm %	280 nm %
◆ Cy3	1.50E+5	550	0.00E+0	0.04	0.05
◆ Cy5	2.50E+5	650	0.00E+0	0.00	0.05
◆ Alexa Fluor 488	7.10E+4	495	0.00E+0	0.03	0.11
◆ Alexa Fluor 546	1.04E+5	556	0.00E+0	0.21	0.12
◆ Alexa Fluor 555	1.50E+5	555	0.00E+0	0.04	0.08
◆ Alexa Fluor 594	7.30E+4	590	0.00E+0	0.43	0.56
◆ Alexa Fluor 647	2.39E+5	650	0.00E+0	0.00	0.03
◆ Alexa Fluor 660	1.32E+5	663	0.00E+0	0.00	0.01
◆ Cy3.5	1.50E+5	581	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Cy5.5	2.50E+5	675	0.00E+0	0.00	0.00
◆ DyLight 488	7.00E+4	493	0.00E+0	0.23	0.15
◆ DyLight 549	1.50E+5	562	0.00E+0	0.08	0.08
◆ DyLight 594	8.00E+4	595	0.00E+0	0.40	0.59
◆ DyLight 633	1.70E+5	627	0.00E+0	0.07	0.11
◆ DyLight 649	2.50E+5	654	0.00E+0	0.03	0.04
◆ DyLight 680	1.40E+5	684	0.00E+0	0.14	0.13

Insert Below
Delete Selected
Edit Selected
Save
Exit

Note - predefined dyes are indicated with a diamond and cannot be modified.

8.　トラブルシューティング

エラーコード

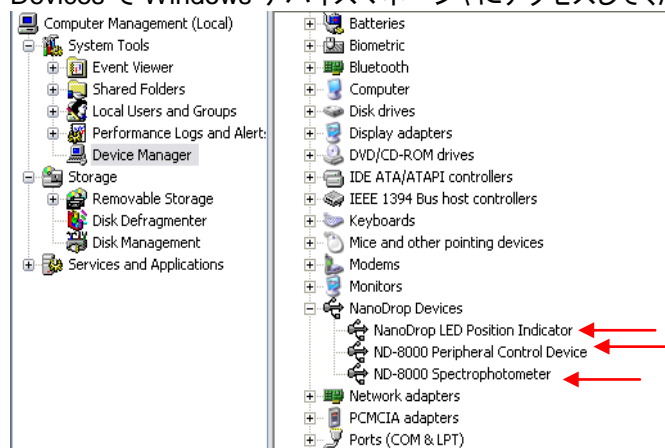
Unrecognized Devices

Instrument, Peripheral Control Device or LED Position Indicator Not Found

上記のエラーはソフトウェアの起動時に発生し、電源もしくは USB ケーブルの接続上の問題、または特定のドライバの読み込み上の問題を示唆しています。トラブルシューティングについては以下に従ってください。

1. 本体に電源を接続します。本体背面の USB 接続部を通じて、ライトの点灯をチェックし、本体に電源の入ったことを確認してください。

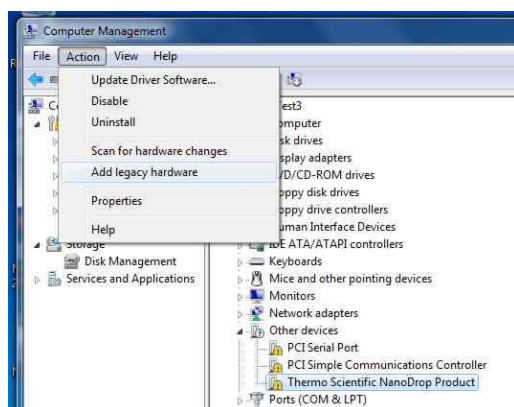
2. USB ケーブルが本体とパソコンにきちんと接続されていることを確認してください。注意: USB ケーブルに加え、内部 USB ドライバがあります。USB ケーブルの接続時、複数の USB デバイスがインストールおよび認識されてから (約 30 秒) 、ソフトウェアを起動してください。

3. ケーブルの接続が適切に行われた上で、同じエラーが続くのであれば、デスクトップのマイコンピュータアイコンの右クリック、もしくはスタート > マイコンピュータ (右クリック) > 管理　> デバイスマネージャ > NanoDrop Devices で Windows デバイスマネージャにアクセスしてください。

4. 未知のデバイスの場合、黄色い感嘆符もしくは疑問符が NanoDrop デバイスの隣に表示されます。未知のデバイスを右クリックし、削除を選択して、マニュアルで未知のデバイスをアンインストールしてください。

5. 本体から USB ケーブルを抜き、次に電源を抜きます。

   再び電源を差し込み、5 秒待ってから、USB ケーブルを接続してください。Found New Hardware ウィザードが表示される場合があります。ウィザードが表示されたら、ソフトウェアの自動インストール手順に従ってください。Windows XP SP2 では下図のように適当なソフトウェアを参照するために、インターネット検索を実行するか、尋ねられます。**No, not this time** を選択してください。注意: Found New Hardware Wizard を通じてのインストールには 2 つのサイクルが必要となります。1 つは分光光度計のためのもので、もう 1 つは 内蔵の周辺装置コントロールデバイスのためのものとなります。

Intro Page: Windows XP- SP2　　Other Windows Operating Systems

6. 対象のドライバをハイライトして、Add legasy hardware 機能を選択すると、Windows 7 の Add Hardware ウィザードを起動することができます。

7. 最初の画面のインストール画面に関する指示を無視して **Next** をクリックします。

8. Advanced を選択して **Next** をクリックします。

9. デバイスをスクロールして (アルファベット順に並んでいます。) Thermo Scientific NanoDrop をハイライトして、ダブルクリックし、**Next** をクリックします。

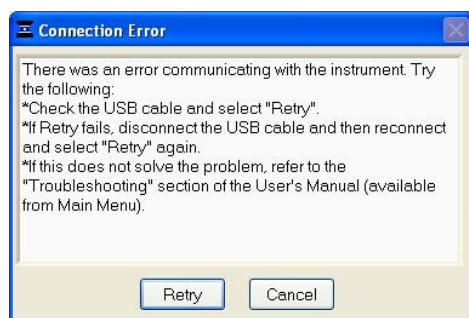
10. **Have Disk** を選択すると、Install from Dick ウィンドウが表示されます。

11. **Browse** ボタンを選択し、インストールするドライバのある適切なファイルロケーションを検索します。大半のコンピューターでは以下のロケーションとなります。*Local Disk (C:) - Program Files（x86）- Thermo – NanoDrop 2000 – ndusb32（または 64）*

12. Next をクリックして、インストールプロセスを開始します。終了すると、code10 – “This device cannot start” メッセージが表示されます。メッセージの表示は想定内で、元々問題となっていたデバイスと新しくインストールするデバイスドライバがインストールされたことを示しています。**Finish** をクリックします。

13. Device Manager に戻ります。2 つの NanoDrop デバイスが複数箇所に存在する場合があります。下記例では、Thermo Scientific NanoDrop Products を削除して、NanoDrop 2000 のみを残すことができます。NanoDrop 2000 デバイスが 2 つある場合は、片方を残して、片方を削除します。

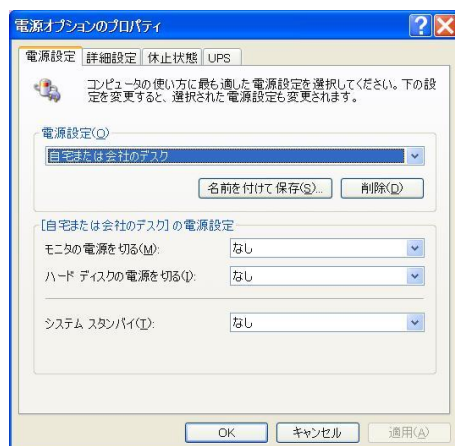
問題が解決しない場合は、他のパソコンにソフトウェアをインストールし、本体と接続してください。元のパソコンの USB ハブ/ポート が適切に機能していたかを確認します。1 台目のパソコンと同様の状態が表示されるのであれば、販売店もしくは輸入元に連絡してください。

Connection Error

上記のエラーはソフトの起動中に USB 接続が遮断された場合に発生します。USB ケーブルが本体と PC に適切に接続されているかを確認して、'Retry' を選択してください。多くの場合、以上で問題は解決されます。USB ケーブルを接続する際は、USB デバイスが接続され、インターナルドライバが読み込まれるまで約 30 秒間お待ちください。

エラーの原因はいくつかあり、解決法は以下の通りとなります。

PC の電源オプション

ご使用のパソコンがスタンバイ、もしくは休止状態となった場合、USB 接続は失われ、'Retry' を実行しても、本体は USB 接続されません。'Retry' を実行する前に、USB ケーブルを一度外し、再接続する必要があります。

スタート → コントロールパネル → 電源オプションを選択することで、電源オプションのプロパティページを開いて、電源設定を確認することもできます。'[自宅または会社のデスク]の電源設定' カラムの 'システムスタンバイ' もしくは 'システム休止状態' を、下図と同様に 'なし' に設定してください。

PC の USB ポートの故障

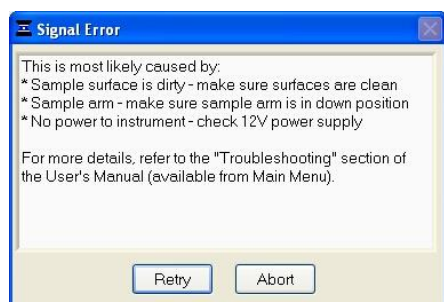
大半の時間で正常に作動しているにもかかわらず、断続的に Connection Error が表示される場合は、PC の USB ポートが原因であると考えられます。他の PC にソフトウェアをインストールして、操作を行ってください。新しい PC で Connection Error の起こらない場合は、もとの PC の USB カードを交換する必要があります。

Signal Error

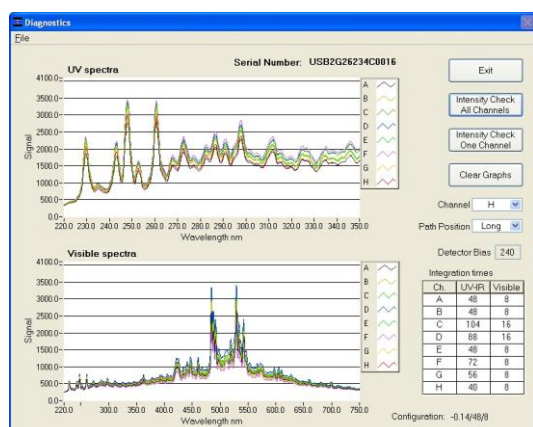
Signal Error

This is most likely caused by:
* Sample surface is dirty - make sure surfaces are clean
* Sample arm - make sure sample arm is in down position
* No power to instrument - check 12V power supply

For more details, refer to the "Troubleshooting" section of the User's Manual (available from Main Menu).

Retry　Abort

上記のエラーは、検知器に光が届かない場合、もしくは光が届いても不十分な場合に発生します。メッセージで概説されているトラブルシューティングを試みても、問題の解決しない場合には、Intensity Check を実行してください。

メインメニューから Utilities and Diagnostics モードを開きます。

上部アームを下げ、OK を選択して本体を初期化し、'Intensity Check' を選択します。下図に示されたような 8 つのスペクトルについての 2 枚のパネルと 65 カウント以上のバイアス値が表示されるようであれば、USB 通信は正常に動作し、電源とフラッシュランプも機能しています。

スペクトルが表示されないようであれば、機器の電源が適切に接続されているか確認してください。次に、テスターを用いて電圧を確認し、電源が正常に機能しているか確認してください。電圧は 12-20 Vdc の間となります。

上記のいずれのトラブルシューティングでも問題の解決しない場合は、販売店もしくは輸入元に連絡してください。

Error Code 8

Error Code: 8

Error reading or writing to file. This might be caused by:

1. The current Windows account does not have Read and Write priveleges to the folder C:\NanoDrop Data\ and all of its subfolders. Contact your PC administrator to give all users Read and Write access to these folders.

2. The .log files have been removed from the folder C:\NanoDrop Data\log files\. Replace the .log files if they have been moved. If the .log files can not be located, reinstall this software.

3. The .log files described above are set to read only. Check the properties on each .log file and ensure that the "Read-only" box is unchecked.

EXIT

上記のエラーはユーザーが c:\ND-8000 Data フォルダ、またはそのサブフォルダへの読み取りもしくは書き込み権限を持っていない場合に表示されます。オペレーティングソフトウェアを操作するすべてのユーザーに適切な Windows アクセス権限を与えるよう、PC の管理者に指示してください。

Error Code 8013

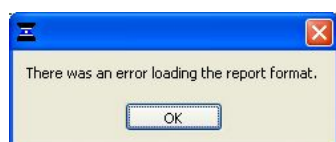
Error Code: 8013

ND-8000 Peripheral Control Device not found.

ソフトウェアのインストール時、3 つの USB ドライバをインストールします。上記のエラーメッセージはモーター USB ドライバが適切にインストールされていないことを示しています。上記の'Instrument Not Found エラー' の手順に従ってください。USB ケーブルを接続する際は、USB デバイスとインターナルドライバがインストール及び認識されるまで、約 30 秒間お待ちください。

Report Format Error

There was an error loading the report format.

OK

上記のエラーは c:\ND-8000 Data\custom report format 内のレポート形式ファイルへの書き込み権限をユーザーが持っていないか、フォルダ内のファイルが移動されている場合に表示され、Error Code 8 (上記) と同様のエラーとなります。すべてのユーザーに対象のフォルダへの読み込みおよび書き込み権限を与えるよう、PC の管理者に指示してください。ファイルが移動されている場合は、戻してください。ファイルを戻すことができない場合、ソフトウェアを再インストールしてください。

その他のソフトウェアエラーメッセージ

- **Source Error…**
  本エラーは吸光度を適切に測定する為に必要な光量が不足していることを示します。上部アームが下がっているか、電源が適切に接続されているか、確認してください。

- **No Active Samples for Measurement…**
  本エラーは測定を実行するサンプルポジションが選択されていないことを示しています。ユーザーは'All Active' のクリック、もしくは次に測定する個別のポジションの選択を行ってください。

- **Error 8005**
  本エラーは .txt フォーマットでないプレートファイルのロードを試みると発生します。

- **Error 9000**
  本エラーは passwords.log ファイルの損失、もしくは損傷によって発生します。オペレーティングソフトウェアを再インストールし、プロンプトに従って既存のコピーを上書きしてください。新しい passwords. log ファイルは C:\ND-8000 Data\Log Files フォルダに作成されます。

- **Error 9003**
  本エラーはモニター解像度が 1024x768 を満たしていない場合に発生します。パソコンの設定を確認してください。スタートメニューツールバーは画面横ではなく、画面下に設定してください。

- **Low Detector Bias…**
  本エラーは測定中に検出器に問題の生じた場合に表示されます。販売店もしくは輸入元にご連絡ください。

Driver X Configuration Failed- You Must Manually Edit the Registry
本エラーメッセージ (もしくは類似した表現のエラー) は Windows 2000 もしくは XP の動作しているパソコンへの、ソフトウェアのインストールを試みた場合に表示されます。ユーザーにインストール権限のないことが原因で発生するので、上記のエラーメッセージの表示された場合は、PC の管理者に問い合わせてください。

Insufficient Memory…
本エラーメッセージ (もしくは類似した表現のエラー) は、ハードディスクに 100 MB 以上の空き領域のないパソコンへの、ソフトウェアのインストールを試みた場合に表示されます。

液柱形成の問題

Warning

The ratio between the long path and short path absorbance is out of tolerance. This might be caused by:

1. An air bubble was entrained in the sample. Try measuring again.
2. The liquid column is not forming (can be confirmed visually).
If this is occurring, try cleaning both measurement pedestals with water and then wiping each surface 50 times (aggressively) with a dry lab wipe. If column breakage persisits, use a larger sample size (1.5 - 2 ul).
3. One or both of the measurement paths is out of calibration.
If this warning persists and the above remedies do not solve the problem, contact NanoDrop Technologies or your distributor.

OPEN USERS MANUAL

OK

上記の警告は液柱の形成に問題のある場合に表示されます。ソフトウェアが長い光路長 (1 mm) と短い光路長 (0.2 mm) の吸光度を比較し、短い光路長の吸光度が長い光路長の吸光度の 20% とならない場合に警告を発します。最も一般的な例としてはステージ表面の汚れにより液柱が形成されない場合が挙げられます。

ステージ表面が汚れている場合、下部測定面に滴下したサンプルが平らに広がり、下部測定面全体を覆います。界面活性剤を含むバッファーおよびその他の様々な試薬は、ステージ表面の状態の悪化を引き起こす場合があります。Bradford 試薬の日常的な使用は 1 uL サンプルでの液柱形成を困難にする場合があります。

測定面の状態の改善
表面の状態が悪化した場合や、測定時に液柱が形成されにくい場合は、測定面のリコンディションの迅速な手段として、NanoDrop リコンディショニングキット (PR-1) をご使用ください。
1. PR-1 の入ったバイアルを開け、キットに付属している塗布器を使用して、中身を極少量取り出します。

2. PR-1 を上下測定面に極薄く塗ります。

3. そのまま 30 秒間放置して、乾かします。

4. ラボペーパーを 4 つ折りにし、上下測定面をこすって、PR-1 を取り除きます。注意: 除去した PR-1 が黒く見えるのは通常の現象です。

ラボペーパーに黒い残留物が付着しなくなったら、測定面の状態改善は完了です。効果を確認するために、1 uL の dH20 を下部測定面に添加し、液体が丸く盛り上がることを確認してください。

PR-1 キットを使用する代わりに、下記の方法でも測定面の状態を改善できます。

1. ラボペーパーを厚くなるように何度か折り重ねます。

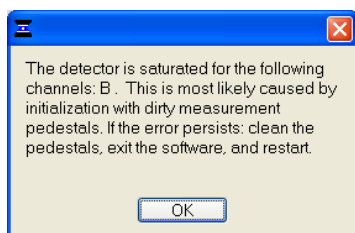
2. ラボペーパーを下部測定面に均等に押しつけ、50 回以上強くこすります。ラボペーパーが破れた場合は、新しいラボペーパーで繰り返してください。上部アームについても同様の手順を施しますが、力を入れすぎるとアームが破損する場合がありますので、ご注意ください。

効果を確認するために、1 uL の dH20 を下部測定面に添加し、液体が丸く盛り上がることを確認してください。

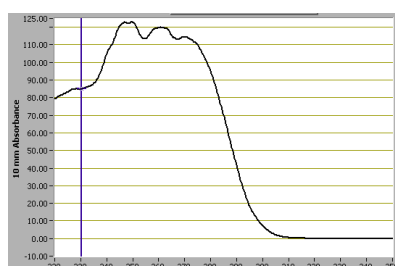
以上の手順で、問題の解決しない場合は、販売店もしくは輸入元までご連絡ください。

検知器の飽和

The detector is saturated for the following channels: B . This is most likely caused by initialization with dirty measurement pedestals. If the error persists: clean the pedestals, exit the software, and restart.

OK

上記のエラーは、初期化の際に特定のポジションで、ソフトウェアが長い集積時間を算出した場合に表示されます。多くの場合、サンプルに気泡が存在した場合、もしくは測定面に汚れが付着している場合に発生します。測定モードを終了し、脱イオン水で上下測定面を清拭してください。ソフトウェアを終了する必要はありません。問題が解決しない場合は、販売店もしくは輸入元にご連絡ください。

スペクトル異常

一部がギザギザでその他の部分が正常なスペクトルは、検知器の飽和によって引き起こされます。サンプル測定台が汚れているため、算出時間の長くなったことが原因です。上下測定面を清拭し、ソフトウェアを再スタートしてください。下図はスペクトル異常の例です。

スペクトル異常 – 核酸測定モード　　スペクトル異常 – Bradford 測定モード

極めて「非平坦な」もしくは「不揃いの」スペクトルは、分光計に到達する光量が不十分な場合に取得されます。こうした問題が発生した場合は、販売店もしくは輸入元にお問い合わせください。

サンプルの精度と再現性

サンプルの不均一や液柱の不全によって、データの精度と再現性が低下します。再現性の高いデータを得るためにも、以下の手順に従ってください。

- **測定モードを実行する前に、測定面のクリーニングを徹底してください。**
  スタートアップ時に測定面が汚れていると、吸光度のエラーやシグナルの飽和を引き起こします。乾燥したサンプルを拭い取るために、脱イオン水での定期的な拭き取りをお勧めします。注意: 脱イオン水使用時は、噴霧ボトルの使用はお避けください。

- **1.5-2 uL のサンプル量で測定してください。**
  測定時にサンプルの液柱が適切に形成されない場合は、スペクトルと測定値に明らかな異常が示されます。測定時、液柱の形成を目で確認します。必要に応じて、1.5-2 uL のサンプルを使用して、確実に液柱が形成されるようにします。タンパク質や界面活性剤を含む溶液は、液柱の形成を困難にする場合があります。表面の状態が悪化した場合や、測定時に液柱が形成されにくい場合は、測定面のリコンディションの迅速な手段として、NanoDrop リコンディショニングキット (PR-1) をご使用ください。詳細については本セクションの '液柱形成の問題' をご覧ください。

- **DNA サンプルは 55℃ に温め、十分に攪拌してください。**
  NanoDrop 8000 では非常に少量のサンプルを扱うため、サンプル液の均一性が非常に重要なファクターとなります。ゲノム DNA やラムダ DNA 等の大きな分子を含むサンプルではサンプルの均一性による影響が顕著です。注意: キュベットを使用するシステムでは、より多量のサンプルを使用するため、均一性による影響は受けにくくなります。

- **Blank の測定を実行してください。**
  機器が正常に作動していることと、キャリーオーバーの問題がないことを確認するために、以下の手順に従って、Blank の測定を実行してください。

1. 測定モードを開きます。

2. ブランクサンプル (測定に使用するバッファー、溶媒等) を下部測定面のそれぞれに乗せ、上部アームを閉じてください。

3. Blank ボタンをクリックしてください。測定が終了したら、測定面からブランクサンプルを拭き取ります。

4. "All Active On" を選択し、新しいブランクサンプルをすべての測定面に乗せて、'Measure' ボタン (F1) で測定します。8 つのスペクトルは 0 に近い、比較的平坦なベースラインとなるはずです。

5. ラボペーパーを用いて、上下測定面からサンプルを拭き取り、1 mm 光路相当で 0.005 A 以内のスペクトルとなるまで測定を繰り返します。注意: Nucleic Acid、A280、および Protein & Labels モードでは吸光値が 10 mm 光路長でノーマライズされて表示されるので、誤差はベースラインから +/- 0.05 abs となります。

6. 必要に応じて、測定を開始する前にプレートファイルをリロードします。

- **ブランクサンプルとサンプルの溶媒は同じものを使ってください。**
  本体のブランクサンプルにはサンプルの溶媒と同じ物質を使用してください。

- **薄すぎるサンプルは使用しないでください。**
  検出限界点もしくは限界点周辺でのサンプルの測定は、吸光度が不安定となります。本説明書の各測定モードの濃度範囲表を参照し、検出限界の下限を確認してください。

- **CF-1 による機器の精度の確認を行ってください。**
  CF-1 は水性重クロム酸カリウム ($K_2Cr_2O_7$) 溶液です。Thermo Fisher Scientific もしくは 販売代理店よりご購入ください。NanoDrop 8000 分光光度計のキャリブレーションに使用します。6 ヶ月ごとに CF-1 を使用して、本体の性能を点検することをお奨めします。

260/280 Ratio

標準のキュベット分光光度計から、NanoDrop® 8000 分光光度計に切り替える際、多くの研究者は着実な 260/280 シフトを経験します。260/280 シフトの主な 3 つの原因を、以下に列挙します。

- **サンプルの酸性度による変動**
  水溶液の pH の僅かな変化が、260:280 の変動**を引き起こします。酸性溶液では、260:280 比が 0.2～0.3 過小評価され、一方塩基性溶液では、0.2～0.3 過大評価されます。NanoDrop 8000 分光光度計を、他の分光光度計と比較する場合、NanoDrop 8000 分光光度計で測定する非希釈サンプルが、他の分光光度計で測定する希釈サンプルと同じ pH およびイオン強度であることを確認してください。

  ** William W. Wilfinger, Karol Mackey, and Piotr Chomczynski1, Effect of pH and Ionic Strength on the Spectrophotometric Assessment of Nucleic Acid Purity (核酸純度の分光光度計による評価における、pH およびイオン強度の影響): BioTechniques 22:474-481（March 1997）

- **分光光度計の波長精度**
  260 nm における核酸の吸光度は平坦ですが、280 nm における核酸の吸光度曲線は、かなり勾配度があります。波長精度の僅かなシフトが 260:280 比に大きな影響を与えます。例えば、波長精度の± 1 nm シフトが、260:280 比において、± 0.2 の変動を招きます。多くの分光光度計が 1 nm の精度規格を謳っているため、どちらも波長精度規格内にある 2 つの分光光度計で同一の核酸サンプルを計測した際に、260:280 比における 0.4 程度の相違は、許容範囲にあります。

- サンプル内のヌクレオチド構成
  DNA と RNA を構成する 5 つのヌクレオチドは、260:280 比***の著しい変動を示します。以下は、単独で測定した場合の、各ヌクレオチドの推定 260:280 比を表します。

  グアニン:　1.15
  アデニン:　4.50
  シトシン:　1.51
  ウラシル:　4.00
  チミン:　1.47

  核酸の 260:280 比の結果は、4 つのヌクレオチドの 260:280 比の加重平均とほぼ同じになります。一般的に認められている DNA と RNA の比率である 1.8 と 2.0 が「経験値」であることに留意してください。実際の比率は、核酸の構成に依存します。注意：RNA では、ウラシルの比率がチミンと比較して高いため、通常

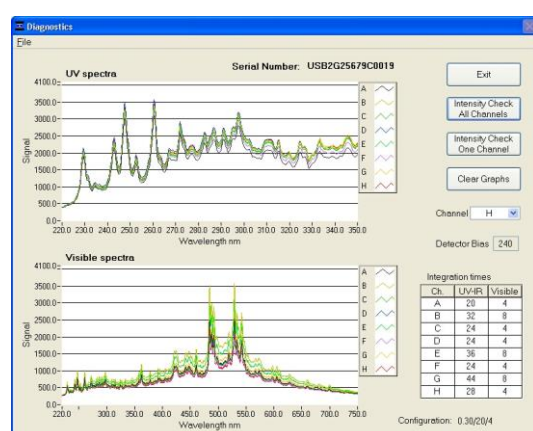
260:280 比が高くなります。

*** Leninger, A. L. Biochemistry, 2nd ed.(生理化学 第二版), Worth Publishers, New York, 1975

テクニカルサポート

上記のトラブルシューティングを参照しても、問題が解決できない場合には、販売店または輸入元までご連絡ください。以下の情報が大変役立ちます。

- **本体のシリアル番号**
  機器の底にシリアル番号が記されています。

- **Utilities and Diagnostics モードの JPG イメージ**
  Utilities & Diagnostics モードを開き、OK を選択して、モードを初期化します。Intensity Check を選択します。スペクトルが作成されたら、File → Save Window を選択します。ハードディスクに保存して、添付ファイルとして販売店もしくは輸入元まで電子メールで送信してください。

- **測定モードの表示画面印刷**
  パソコンに表示される実際のスペクトルの画面印刷は、問題の検証にとても役立ちます。画面印刷のキャプチャーは、非常に簡単です。印刷したい画面表示で、” Alt+Print Screen” か ” Fn+Alt+Print Screen” を押します。以上で、選択されている画面ウィンドウが、パソコンのクリップボードにコピーされます。次に取得したスクリーン・キャプチャーを MS Word、MS ペイント(通常、パソコンに標準で付属し、スタート → アクセサリー からアクセス可能です。) 、またはその他の画像処理ソフトウェアに貼付します。”.jpg” もしくは ”.doc” として保存して、輸入元もしくは販売店宛てに添付ファイルとして電子メールで送信します。

- **データとアーカイブファイル**
  取得したデータに疑問がある場合には、疑わしいデータを含むアーカイブファイルを、電子メールの添付ファイルとして、販売店、または輸入元に送信するか、Fax してください。アーカイブファイルは C:\ND-8000 Data > ユーザー名 > 測定モード (BCA Protein、Bradford、Cell Culture、Protein Lowry、Proteins and Labels、MicroArray、Nucleic Acid、Protein AS-280、UV-Vis) で見つけることができます。

9. 保守および保証

クリーニング

NanoDrop 8000 分光光度計で必要な通常のメンテナンスは、上下の測定面を清潔に保つことです。サンプルの測定が終わったら、その都度上下の測定面をラボペーパーで拭い、サンプルのキャリーオーバーや汚れの蓄積を防ぎます。最後に脱イオン水を使って、表面をすべてクリーニングすることも推奨されます。注意: 脱イオン水を滴下する際は、噴霧ボトルを使用しないでください。

1. 下部測定面に 5 uL の dH2O を滴下します。

2. 上部アームを下げ、液柱を形成してください。そのまま、2-3 分間放置します。

3. ラボペーパーを用いて、上下測定面から dH2O を拭き取ります。

注意: 通常、測定面に付着したサンプルは dH20 で十分拭い取ることができます。乾固したタンパク質等のしつこい汚れには、0.5 M の HCl と 5 uL の dH20 のご使用をお勧めします。

測定面の状態の改善

表面の状態が悪化した場合や、測定時に液柱が形成されにくい場合は、測定面のリコンディションの迅速な手段として、NanoDrop リコンディショニングキット (PR-1) をご使用ください。

1. PR-1 の入ったバイアルを開け、キットに付属している塗布器を使用して、中身を極少量取り出します。

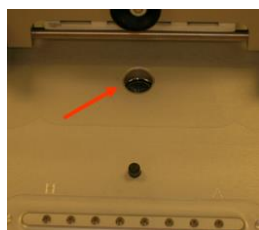
2. PR-1 を上下測定面に極薄く塗ります。

3. そのまま 30 秒間放置して、乾かします。

4. ラボペーパーを 4 つ折りにし、上下測定面をこすって、PR-1 を取り除きます。注意: 除去した PR-1 が黒く見えるのは通常の現象です。

ラボペーパーに黒い残留物が付着しなくなったら、測定面の状態改善は完了です。効果を確認するために、1 uL の dH20 を下部測定面に添加し、液体が丸く盛り上がることを確認してください。

光源ウィンドウのクリーニング

キセノンフラッシュランプウィンドウは汚れていない状態を保つ必要があります。ウィンドウは水を含ませたラボペーパーで拭いてください。注意: ウィンドウのクリーニングにアセトン等の有機溶媒は決してご使用にならないでください。

測定面の汚染除去

汚染除去の必要な場合は、次亜塩素酸ナトリウムの 0.5 % 溶液 (市販の漂白剤を 1:10 希釈 – 使用の都度用意) 等の消毒液を使用し、上下測定面の生理活性物質を除去してください。測定面のオプティカル部分の金属は SUS303 ステンレス鋼を使用し、一般的なラボの薬品に対して耐性があります (付録「溶媒耐腐食性」を参照)。最後の測定が完了したら、脱イオン水を含ませたラボペーパーで拭いた後、乾いたラボペーパーで良く拭いて下さい。注意: 希釈剤または漂白剤を滴下する際は、噴霧ボトルを使用しないでください。

サンプル保持システムの迅速なリコンディション
Bradford 試薬等の表面活性剤を含むバッファーはサンプル台表面の状態を悪化させ、1 uL サンプルでの液柱形成を困難にする場合があります。表面の状態が悪化した場合や、測定時に液柱が形成されにくい場合は、測定面のリコンディションの迅速な手段として、NanoDrop リコンディショニングキット (PR-1) をご使用ください。

校正

光路長 (吸光度精度) キャリブレーションチェック
CF-8 校正液を用いて、6 ヶ月ごとに校正を行うことをおすすめします。CF-8 は本体の波長精度を評価します。

波長
毎回ソフトウェアの起動時に、自動で校正が行われます。ユーザーが波長の校正を行う必要はありません。

保証

装置本体の保証期間はお買い上げの日から 1 年間です。製造上の欠陥等が原因で故障した場合は、保証期間内であれば、無償で修理いたします。

交換パーツ
通常、定期的な交換の必要なパーツはキセノンフラッシュランプだけです。ランプは少なくとも 3 万回測定の耐久性があります。ランプの残り寿命は計測できませんが、消耗が進むとベースラインの不安定、もしくは本体起動時のエラー等が生じます。ランプの交換が必要となった場合は、輸入元もしくは販売店までお問い合せください。

10. 付録

本体仕様

- 必要なサンプル量: 1 uL
- 測定サンプル数: 8 サンプルまで
- 光路長: 1 mm (高濃度サンプル測定時は 0.2 mm)
- 光源: キセノンフラッシュランプ
- 検出: 2048-素子 リニアシリコン CCD アレイ
- 測定波長範囲: 220-750 nm
- 波長精度: 1 nm
- 波長分解能: 3 nm (FWHM at Hg 546 nm)
- 吸光度繰り返し精度: 0.003 absorbance (1mm 光路長)
- 吸光度絶対精度: 3% (at 0.74 absorbance at 350 nm)
- 測定吸光度範囲: 0.02-75 Abs (10 mm 光路長換算)
- 測定下限濃度: 2 ng/microliter (dsDNA)
- 測定上限濃度: 3700 ng/microliter (dsDNA)
- 測定時間: 20 秒
- 底面積: 24 x 32 cm
- 重量: 3.5 kg
- サンプル測定面の素材: 303 ステンレス鋼とクオーツファイバー
- 作業電圧: 12 Vdc
- 作業時消費電力: 30 W
- 休止時消費電力: 6 W
- 本体同封品: Windows 2000、XP、Vista (32 bit)、および Windows 7 (32 bit および 64 bit) 対応ソフトウェア

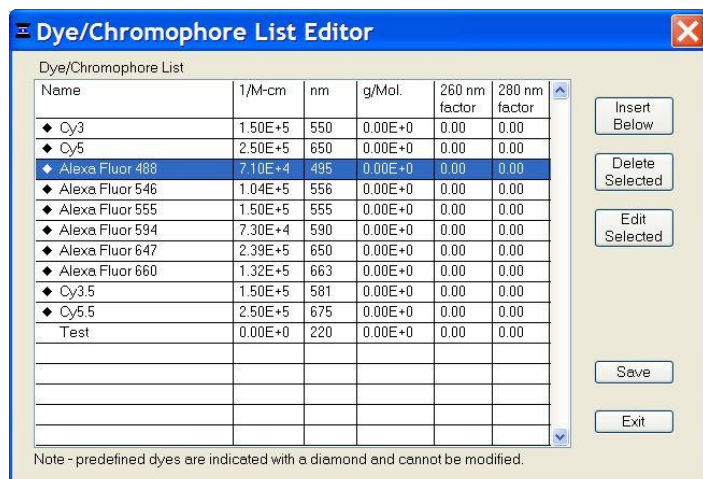
Blank 測定と吸光度の算定

NanoDrop 8000 分光光度計は、ブランクサンプルを使用して “Blank” 測定すると、ベースラインの光度として測定値を記録します。サンプルの測定時、サンプルを透過した光度が記録されます。サンプルの吸光度は、Blank 測定の光度とサンプルの光度を用いて、以下の計算式で算出されます。

吸光度 = -log (サンプル光度/Blank 光度)

特定の波長における吸光度を求める場合、対象の波長の Blank とサンプルの光度の両方を測定する必要があります。

濃度の算出 (ベールの法則)

一般

ランバート-ベールの法則によると、吸光度 (A) と濃度 (c) には以下の関係があります。

$$A = E * b * c$$

上記の場合、A は測定対象の吸光度 (A) で、E は特定波長でのモル吸光係数 (liter/mol-cm)、b は光路長 (cm)、c は測定対象のモル濃度を表します。

蛍光 Dye (マイクロアレイ測定)

ソフトウェアは、ランバート-ベールの法則を使用して、MicroArray 測定モードでの蛍光色素 (dye) の濃度を算出します。以下の表に特定波長における吸光係数を示します。

Dye/Chromophore List Editor

Dye/Chromophore List

Name	1/M-cm	nm	g/Mol.	260 nm factor	280 nm factor
◆ Cy3	1.50E+5	550	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Cy5	2.50E+5	650	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Alexa Fluor 488	7.10E+4	495	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Alexa Fluor 546	1.04E+5	556	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Alexa Fluor 555	1.50E+5	555	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Alexa Fluor 594	7.30E+4	590	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Alexa Fluor 647	2.39E+5	650	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Alexa Fluor 660	1.32E+5	663	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Cy3.5	1.50E+5	581	0.00E+0	0.00	0.00
◆ Cy5.5	2.50E+5	675	0.00E+0	0.00	0.00
Test	0.00E+0	220	0.00E+0	0.00	0.00

Insert Below

Delete Selected

Edit Selected

Save

Exit

Note - predefined dyes are indicated with a diamond and cannot be modified.

核酸

核酸の定量のついても、ランバート-ベールの法則に従って算出されます。

c = (A * e)/b

上記の場合、c は測定された核酸の濃度 (ng/uL) であり、A は吸光度 (AU)、e は特定波長における吸光係数 (ng-cm/microlite) であり、b は光路長 (cm) を示します。

核酸の定量には一般に以下の吸光係数が用いられます。

- Double-stranded DNA: 50 ng-cm/ul
- Single-stranded DNA: 33 ng-cm/ul
- RNA: 40 ng-cm/ul

NanoDrop 8000 分光光度計のサンプル測定部分の光路長は 1.0 mm (高濃度サンプル測定時 0.2 mm) で、一般の分光光度計の 10.0 mm に比べて短く設計されているため、一般の分光光度計よりも 50 倍高濃度のサンプルまで希釈しないで測定ができます。

注意: 測定後のアーカイブファイルの吸光度は、核酸、Protein A280、Protein &Labels 測定モードでは 1.0 cm (10.0 mm) に換算した値で、MicroArray と UV-Vis、Protein BCA、Protein Bradford、Protein Lowry、Cell Culture 測定モードでは光路長 0.1 cm (1mm) の値となっています。

サンプル測定面の溶媒耐性

NanoDrop 8000 分光光度計では、ライフサイエンスの分野で使用される様々なサンプルや溶媒を用いることができます。例えば、水溶系のサンプルやバッファー以外にも、methanol、ethanol、n-propanol、isopropanol、butanol、acetone、ether、chloroform、carbon tetrachloride、DMSO、DMF、acetonitrile、THF, toluene、hexane、benzene、sodium hydroxide、sodium hypochlorite (bleach)、dilute HCl、dilute HNO3、dilute acetic acid などが利用可能です。

フッ化水素 (HF) については、測定面の石英ガラスを浸食する作用があるので使用できません。

測定面の汚染除去

汚染除去の必要な場合は、次亜塩素酸ナトリウムの 0.5% 溶液 (一般に市販されている漂白剤を 10 倍希釈したもの - 使用ごとに作成) 等の消毒液を使用し、上下測定面の生理活性物質を除去してください。測定面のオプティカル部分の金属は、SUS303 ステンレス鋼を使用し、一般的なラボの薬品に対して耐性があります (付録「溶媒耐腐食性」を参照)。最後に脱イオン水を使って、表面をすべてクリーニングすることも推奨されます。注意: 脱イオン水を滴下する際は、噴霧ボトルを使用しないでください。